Libros de Cátedra

Fisiología celular: señales y respuestas

Verónica Milesi y Pablo Mobili (coordinadores)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas





Fisiología celular: señales y respuestas

Verónica Milesi
Pablo Mobili
(coordinadores)

Facultad de Ciencias Exactas







A nuestros estudiantes

Agradecimientos

La génesis de este libro tiene como marco nuestro continuo debate acerca del proceso de aprendizaje que realizan los estudiantes dentro y fuera del aula el cual se enriquece con las opiniones de docentes de otras asignaturas de nuestra facultad y de otras facultades. Este libro tiene como objetivo contribuir y facilitar un proceso de aprendizaje conceptual de la fisiología celular y queremos agradecer a todos y cada una de las personas que con diferentes visiones, experiencias y motivaciones aportaron a la concreción del mismo.

En especial queremos agradecer la dedicación de la Lic. Melisa Moncada en la realización manual de todas las ilustraciones del libro y que junto al Dr. Nicolás Enrique digitalizaron y adecuaron los formatos y colores de las figuras para una mejor comprensión de los conceptos que se abordan en el mismo.

Finalmente, agradecer a la Universidad Nacional de la Plata que nos da el espacio institucional y la oportunidad para hacer realidad este libro.

Índice

CAPÍTULO 1
Organización del cuerpo animal

Francisco Speroni

Los estudiantes de carreras como Biotecnología, Farmacia o Bioquímica están familiarizados con el estudio de la química y de la física y entienden que los fenómenos naturales se pueden explicar como consecuencia de cambios que sufren los átomos, los iones y las moléculas. El cuerpo humano no escapa a esa lógica, pero en ocasiones no resulta sencillo explicar la estructura o comportamientos de ese cuerpo en términos de física o química. Ciertos fenómenos macroscópicos (como el movimiento de una mano, la transpiración, el latido del corazón) se producen por una serie de reacciones químicas o transportes de sustancias a niveles que no pueden siquiera apreciarse con un microscopio. La comprensión de estos fenómenos puede facilitarse prestando atención a la sucesión ordenada en que se organizan sus componentes. En este capítulo se recorrerá la escala desde el nivel macroscópico del individuo hasta el nivel ultraestructural, prestando más atención a ciertas cuestiones que servirán a otros capítulos.

Al estudiar un organismo pluricelular surge un aspecto importante tanto anatómico como fisiológico, que es la definición de los medios interno y externo. Estos organismos poseen un **medio interno** acuoso que se encuentra rodeando las células, ya sea dentro de vasos (sanguíneos y linfáticos) o en otras ubicaciones. Estos líquidos que conforman el medio interno tienen composiciones químicas relativamente constantes, sirven para aportar nutrientes a las células y funcionan como vehículo para sustancias que abandonan las células. La mayoría de

estos líquidos intercambian materia entre sí rápida y continuamente. Por otro lado, el **medio externo** comprende un entorno fisicoquímico variable (temperatura, presión, contenidos de O_2, CO_2, H_2O, nutrientes, etc.) que provee señales que podrían afectar al medio interno del individuo. La **homeostasis** es el conjunto de fenómenos de autorregulación que conducen al mantenimiento del estado estacionario del medio interno y debe ocurrir a pesar de los cambios y señales provenientes del medio externo.

La disciplina científica que estudia el conjunto de los mecanismos que permiten lograr la homeostasis es la fisiología y será el objeto de estudio de este libro.

1.1 Sistemas o aparatos

El cuerpo de la mayoría de los animales se organiza en sistemas o aparatos[1], cada uno de los cuales permite cumplir con ciertas funciones. De esta manera existen distintos agrupamientos de estructuras que se ocupan de la digestión, la respiración, la locomoción, etc. Cada sistema o aparato está formado por grupos de órganos que se disponen ordenadamente generando distintas aptitudes (como ejemplos: la capacidad de degradar un alimento hasta convertirlo en moléculas pequeñas que puedan ser absorbidas; tener un sistema de conducción de aire que lo acondicione y lo lleve a donde pueda intercambiar O_2 y CO_2 con la sangre; la posibilidad de retirar automáticamente la mano de una superficie que queme o que genere dolor). Para su estudio, el cuerpo puede dividirse en los sistemas nervioso, endócrino y linfático, y los aparatos digestivo, respiratorio, cardiovascular, locomotor, reproductor y urinario. Corresponde aclarar que esta clasificación no es unívoca y pueden describirse otras formas de agrupar las funciones (y por lo tanto los órganos).

Los sistemas o aparatos a su vez están formados por órganos. Algunos aparatos tienen sus órganos en ubicaciones precisas (como ejemplo el aparato respiratorio tiene todos sus componentes distribuidos entre la cabeza, el cuello y el tórax), mientras que sistemas como el nervioso, el linfático o el endócrino tienen sus componentes dispersos, localizados en distintas partes del cuerpo o en órganos que cumplen otras funciones (como ciertas células que se ubican en la pared del estómago y secretan hormonas).

[1] En la concepción clásica, los sistemas se diferencian de los aparatos: los sistemas son aquellos formados por órganos que comparten el origen embriológico, tienen estructuras histológicas similares y predominio de un tejido (como ocurre en el sistema nervioso, en el sistema endócrino o en el sistema linfático). Los aparatos están formados por órganos de distinto origen y estructura (como sucede en el aparato digestivo o en el aparato respiratorio). Actualmente esta clasificación no se usa en forma estricta y distintos autores dividen al cuerpo en distintos números de aparatos o sistemas y ciertos órganos pueden aparecer formando parte de más de un sistema o aparato. Con respecto a estas potenciales contradicciones, conviene aclarar que todas las clasificaciones tienen un grado de arbitrariedad y el objetivo de su uso debe ser facilitar el estudio. Este aparente conflicto tiene que ver con la complejidad estructural del cuerpo humano en donde los componentes macro y microscópicos están interrelacionados sin ajustarse a divisiones o clasificaciones artificiales.

1.2 Órganos

Los órganos son estructuras formadas por dos o más tejidos dispuestos u ordenados de una forma particular capaces de cumplir funciones específicas. Un rasgo macroscópico clasifica a los órganos como huecos o macizos; esta clasificación es sencilla y facilita el estudio. En los órganos huecos se describe la pared que está formada por capas y se encuentra en torno a una cavidad denominada luz. En los órganos macizos se describen dos porciones: parénquima y estroma. El parénquima está formado por los componentes que dan la función particular del órgano y se distribuye por las distintas partes del volumen del órgano. El estroma, formado generalmente por un tipo de tejido que se denomina conectivo, es la porción que da sostén, estabiliza y protege al parénquima, participando además en la regulación de su desarrollo y diferenciación.

Las paredes de los órganos huecos generalmente están formadas por tres o cuatro capas o túnicas concéntricas, cada capa a su vez se compone de varios tejidos que le otorgan al conjunto las características que le permiten cumplir sus funciones: barreras selectivas de permeabilidad, secreción de sustancias hacia la luz del órgano, resistencia mecánica, capacidad de recuperar su forma luego de una deformación, capacidad de moverse activamente, unión a otras estructuras o deslizamiento con poco roce. La luz de algunos órganos huecos corresponde al medio externo (como los órganos que forman el tubo digestivo o el aparato respiratorio), mientras que en otros casos la luz corresponde al medio interno (vasos sanguíneos y linfáticos o el globo ocular). La túnica más interna, en contacto con la luz, en cada caso tendrá características especiales que favorecen o limitan ciertos transportes, modifican o mantienen estable la composición del contenido del órgano. La túnica más interna se denomina "túnica mucosa" (o "membrana mucosa") cuando la luz está en contacto con el medio externo. En cambio, cuando la luz está en contacto con el medio interno, la túnica más interna recibe otros nombres, por ejemplo, en las arterias y las venas, se denomina "túnica íntima".

1.3 Tejidos

Los tejidos están formados por células y sustancias extracelulares que se organizan y asocian desarrollando colectivamente funciones determinadas. En un tejido las células pueden ser iguales o distintas entre sí, pueden estar unidas entre sí o separadas por la sustancia extracelular. Si bien existen importantes diferencias entre las estructuras del cuerpo, ya sea en sus aspectos (estructuras transparentes, opacas, blancas, grises, rojas, amarillas, líquidas, sólidas, rígidas, elásticas) o en sus funciones (acortamiento, generación de impulsos eléctricos, hidrólisis o síntesis de sustancias), sólo existen cuatro tipos de tejidos fundamentales o básicos que se diferencian y organizan formando todos los órganos de los distintos aparatos y sistemas y sus respectivas funciones. Estos cuatro tejidos fundamentales se clasifican en:

- **Tejido epitelial**
- **Tejido conectivo**
- **Tejido muscular**
- **Tejido nervioso**

Estos tejidos tienen a su vez subclases, por ejemplo tejidos musculares liso y estriado o tejidos epiteliales glandular y de revestimiento. Para definir y clasificar cada uno de los tejidos fundamentales se emplean criterios originados en características morfológicas y funcionales. Las definiciones de los tejidos epitelial y conectivo se basan principalmente en la morfología o estructura, mientras que las definiciones de los tejidos muscular y nervioso se basan en sus funciones. Sin embargo, se puede mencionar que la subdivisión del tejido muscular en liso y estriado está basada en un rasgo puramente morfológico (aspecto de las células cuando se observan al microscopio óptico). Por lo tanto, la definición y la clasificación de los tejidos no se pueden reducir a una simple fórmula. Esta complejidad se debe, entre otras causas, al hecho de que los cuatro tejidos fundamentales se originan a partir de una sola célula (producto de la fecundación) que luego por sucesivas mitosis y diferenciaciones genera al embrión (y también a estructuras extraembrionarias, como la placenta).

Un estadío temprano del embrión es el disco germinativo trilaminar, que consta del ectodermo, el mesodermo y el endodermo. Las células que forman estas tres capas se multiplican, se diferencian y migran diferencialmente para combinarse y formar tejidos y órganos. El endodermo origina muchos epitelios, pero también existen epitelios originados a partir del mesodermo y del ectodermo. El mesodermo genera muchos tejidos conectivos de cualquier parte del cuerpo, pero el ectodermo genera tejidos conectivos en la región de la cabeza. El mesodermo origina a la mayoría del tejido muscular, pero algunos músculos lisos se originan del ectodermo. El ectodermo da origen al tejido nervioso y a epitelios como el de la epidermis (Figura 1.1). El hecho de que un mismo tejido (por ejemplo el epitelial) se origine a partir de distintas capas del disco germinativo trilaminar contribuye a ciertas características particulares que se detectan en ciertos tejidos o tipos celulares del adulto.

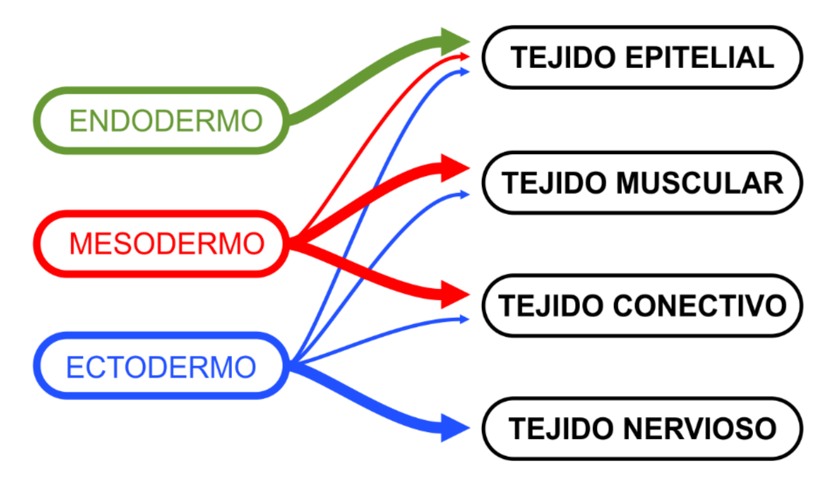


Figura 1.1 Origen embriológico de los diferentes tejidos fundamentales.

A continuación se describen las características propias de cada tejido fundamental:

1.3.1 Tejido epitelial

El **tejido epitelial** está formado por células muy próximas entre sí (en “íntima aposición”), lo que se verifica porque las células se mantienen unidas entre sí por un complejo de unión formado por distintas proteínas. Muchas células epiteliales son polarizadas, presentan una región apical y una región basolateral con distinta distribución de organoides, especializaciones o funciones (por ejemplo en la región basal de una célula se sintetizan proteínas, mientras que éstas se acumulan en gránulos en la región apical). Los epitelios son tejidos avasculares (no tienen vasos entre sus componentes), por lo que necesitan estar asociados (adyacentes) a un tejido conectivo del que obtienen las sustancias necesarias para sus metabolismos. La sustancia extracelular del tejido epitelial está representada por la membrana basal, que es una capa acelular compuesta por proteínas y glucoproteínas que se encuentra unida por un lado a las células epiteliales y por el otro al tejido conectivo adyacente (Figura 1.2).

Un rasgo característico del tejido epitelial es la presencia de un complejo de unión entre las células. Este complejo está compuesto por distintas proteínas transmembrana que establecen tres tipos de enlaces: las uniones adherentes (que garantizan la unión mecánica), las uniones oclusivas (que delimitan compartimentos, ya que crean sellos de baja permeabilidad) y las uniones comunicantes (que permiten el paso de iones y moléculas de pequeño tamaño de una a otra célula, y también se llaman “nexos” o “uniones de hendidura”) (Figura 1.2).

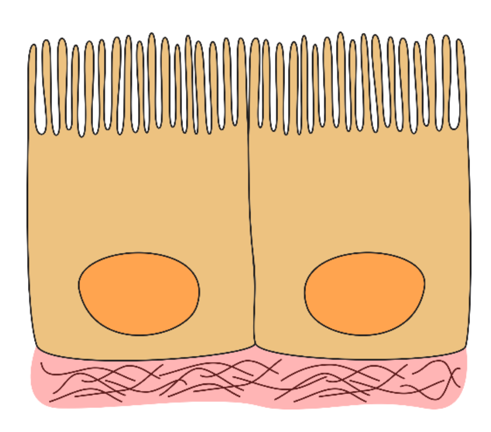


Figura 1.2 Células de un tejido epitelial tipo: en el tejido epitelial las células se encuentran muy juntas unidas por proteínas que forman un complejo de unión. El componente extracelular en este tejido está representado por la membrana basal (color rosado). En este caso es un epitelio simple que cumple (entre otras) funciones de barrera y de transporte.

La clasificación más importante que se usa para estudiar los epitelios es funcional y los divide en dos clases: epitelio de revestimiento y epitelio glandular. El epitelio de revestimiento recubre la mayoría de las superficies corporales, todas las que están en contacto con el medio externo y la mayoría de las superficies que contactan con el medio interno. En cada uno de

estos epitelios de revestimiento aparecen células con distintas características que logran impermeabilizar, absorber, filtrar, proteger, lubricar, etc. El epitelio glandular forma estructuras más o menos complejas que sintetizan moléculas y las secretan a otra parte, ya sea al medio externo (glándulas exócrinas) o al medio interno (glándulas endócrinas). Las glándulas pueden ser microscópicas y formar parte de la pared de un órgano hueco (como las glándulas corpofúndicas del estómago o las células caliciformes que aparecen en varios órganos) o pueden ser órganos macroscópicos macizos cuya función principal es la secreción (como el hígado, el páncreas o la glándula tiroides).

1.3.2 Tejido conectivo

El **tejido conectivo** (o "tejido conjuntivo") se caracteriza por presentar una sustancia extracelular (matriz extracelular) que es abundante y que tiene funciones particulares.

Los distintos tejidos conectivos cumplen funciones específicas muy distintas. En los adultos se describen los tejidos conectivos laxo, denso, adiposo, sanguíneo, hematopoyético, linfático, cartilaginoso y óseo. Los tejidos conectivos laxo y denso se encuentran formando parte de la mayoría de los órganos por lo que se los denomina "tejido conectivo común", mientras que los otros se denominan "tejidos conectivos especializados".

En la mayoría de los tejidos conectivos la matriz extracelular cumple un rol preponderante, aportando las características funcionales más importantes. Como ejemplo, la matriz extracelular de la sangre (el plasma) es líquida y fluye distribuyendo sustancias y células; si esa matriz se coagulara (y dejara de fluir) dentro de los vasos, las células no podrían cumplir sus funciones. Otro ejemplo lo constituye el tejido óseo, que posee una matriz extracelular sólida y mineralizada, cuyas características mecánicas definen las funciones típicas de los huesos. En algunos tejidos conectivos las funciones desempeñadas por la matriz extracelular son tanto o más importantes que las desempeñadas por las células, por ejemplo, en ciertos casos, una parte de un hueso puede ser reemplazada por una prótesis, hecha de metal o cerámica (sin células), evidenciando que es la matriz (y no las células) la porción del tejido que otorga la función a esa parte del hueso.

1.3.3 Tejido muscular

El **tejido muscular** está formado por células capaces de contraerse. Al contraerse, estas células desarrollan fuerzas y cambian la forma y posición de las estructuras en que se encuentran. Las células musculares son alargadas (tienen una dimensión espacial más desarrollada que las otras dos) y en su citoplasma contienen miofilamentos constituidos principalmente por actina (filamentos finos) o por miosina (filamentos gruesos). Es interesante notar que los filamentos de actina y de miosina aparecen en muchos otros tipos celulares formando parte del

citoesqueleto, pero en las células musculares se encuentran muy concentrados, ordenados de formas muy particulares y sus funciones se regulan de maneras muy precisas.

Una clasificación típica del tejido muscular proviene de cómo se ven las células al microscopio óptico en los preparados histológicos y los divide en tejido muscular liso o estriado. Si en el corte longitudinal de estas células se observa un citoplasma sin estructura distinguible al microscopio óptico, se denomina “liso”, si el citoplasma se observa con estrías o bandas transversales, se denomina “estriado”. A su vez el músculo estriado puede ser esquelético o cardíaco dependiendo de su ubicación anatómica y de sus características ultraestructurales y fisiológicas. De esta forma se pueden distinguir tres tipos de tejidos musculares: liso, esquelético y cardíaco. Entre las numerosas diferencias entre estos tres tipos, un rasgo histológico interesante es la presencia o ausencia de uniones entre células. Las células musculares cardiacas y, en algunos órganos, las células musculares lisas se encuentran comunicadas por proteínas similares a las mencionadas como parte del complejo de unión entre células epiteliales (uniones adherentes y de hendidura). Este tipo de uniones no se encuentra entre las células musculares esqueléticas.

1.3.4 Tejido nervioso

El **tejido nervioso** está formado por neuronas y células gliales que se organizan formando la base estructural que coordina e integra las funciones de todo el cuerpo. Las neuronas se caracterizan por el gran desarrollo de funciones celulares tales como la capacidad de reaccionar a una señal y la capacidad de generar un cambio eléctrico y transmitirlo a distintas partes de la célula y a otras células.

Las neuronas son células polarizadas ya que presentan distintos componentes con estructuras y funciones diferentes distribuidos en distintas regiones. Las neuronas adquieren distintos aspectos y funciones pero comparten rasgos característicos como el soma y las prolongaciones. El soma es el cuerpo celular que contiene al núcleo y organoides como el retículo endoplasmático rugoso entre otros. Las prolongaciones del soma son el axón (generalmente uno solo, que puede presentar ramificaciones) y las dendritas (que pueden variar en número entre cero y miles). A través de sus prolongaciones, una neurona establece distintas conexiones con otras células, que pueden ser otras neuronas, células de la glía, o células pertenecientes a otros tejidos como el muscular o el epitelial.

Cada neurona se comunica con otras neuronas, células musculares o epiteliales a través de sinapsis. El tipo de sinapsis más abundante en los mamíferos es la sinapsis química, que se define como la zona especializada de acercamiento celular donde tiene lugar la transmisión de señales entre células, mediadas por neurotransmisores. Entre las dos células que participan de una sinapsis hay un espacio (“hendidura sináptica”) en el cual las moléculas de neurotransmisor difunden desde la membrana presináptica hasta los receptores que se encuentran en la membrana postsináptica.

Según el número de prolongaciones que presentan, las neuronas pueden clasificarse en multipolares (tienen varias dendritas y un axón), bipolares (tienen una dendrita principal y un axón) y pseudounipolares (no tienen dendritas y tienen un axón que se bifurca muy cerca del soma generando una proyección central y otra periférica) (Figura 1.3).

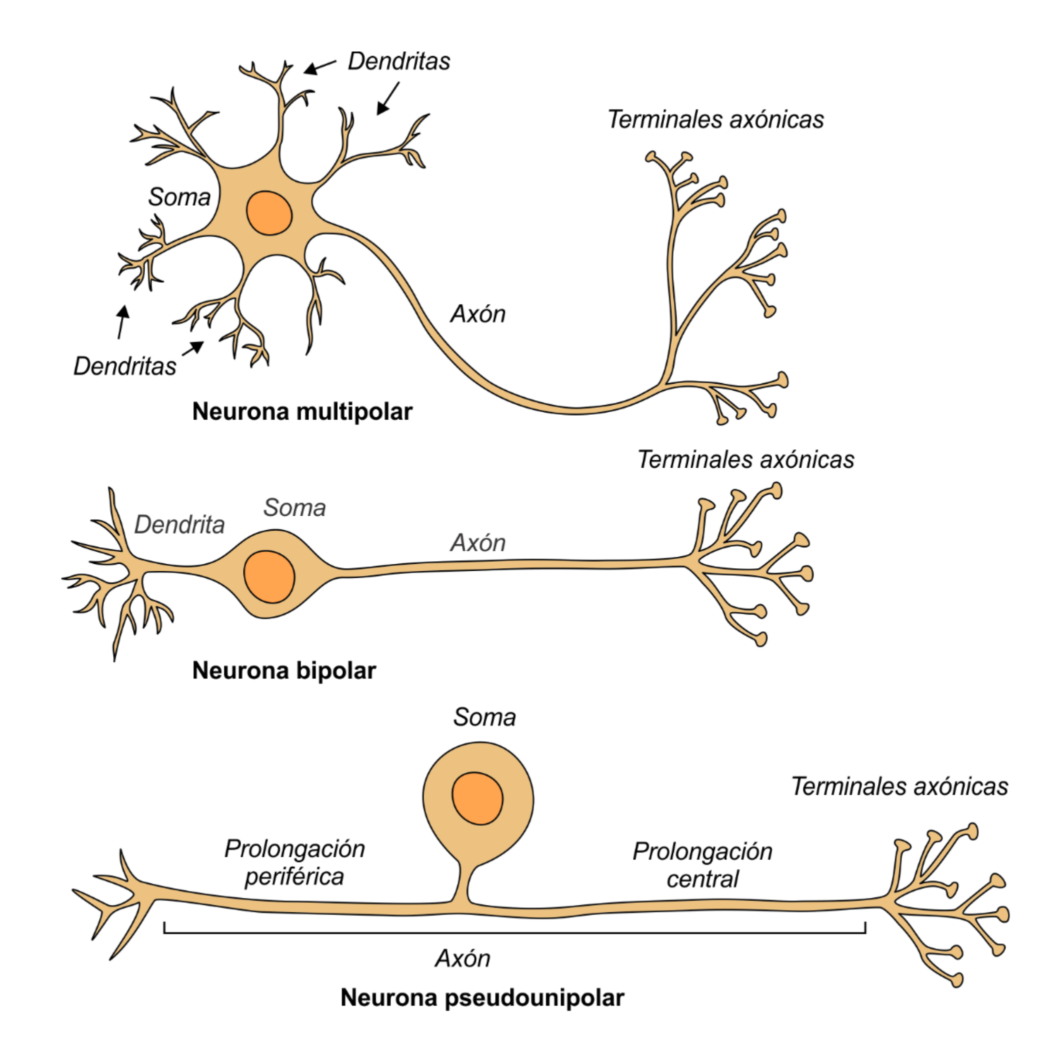


Figura 1.3: Tipos de neuronas de acuerdo a su morfología

1.4 Células

La célula, como componente elemental de los tejidos, constituye la mínima porción de protoplasma (materia viva) que posee existencia independiente. Las definiciones y descripciones detalladas de los componentes celulares pueden encontrarse en libros de biología, citología e histología. En esta sección se mencionarán, en forma de preguntas o inquietudes, algunas características morfológicas que son importantes cuando se estudian fenómenos fisiológicos.

Preguntas clave

- **Forma y tamaño:** ¿La célula en estudio es esférica, alargada, aplanada, con forma de disco? ¿Tiene dimensiones microscópicas o puede llegar a medir algunos centímetros? ¿Estas características se relacionan con fenómenos de transporte a través o dentro de la célula?
- **Polarización:** ¿La célula en estudio presenta en todas sus regiones las mismas estructuras (organoides, especializaciones de membrana) y por lo tanto tiene la capacidad de cumplir todas las funciones en cualquier parte, o es una célula polarizada (como muchas epiteliales o las neuronas) en la cual la síntesis o degradación de sustancias, la recepción de señales y el transporte pueden ocurrir en sitios determinados, generando características morfológicas y funcionales muy distintas en cada región?
- **Disposición espacial:** ¿La célula se dispone aleatoriamente dentro del órgano o tiene una orientación (longitudinal, circular, oblicua con respecto a un eje)? ¿Se agrupa en capas (como en ciertos epitelios o músculos), en haces (como en ciertos músculos, tractos o nervios) o forma secuencias de células en serie (como las neuronas que forman vías nerviosas)?
- **Uniones:** ¿Las células se encuentran separadas entre sí por una matriz extracelular o se encuentran unidas? ¿Qué tipos de uniones pueden establecerse entre dos células?
- **Ubicación:** ¿La célula tiene una ubicación permanente o puede desplazarse por distintas partes del cuerpo? En caso de migrar, ¿cómo lo hace: es conducida por un fluido o puede moverse activamente como respuesta a determinadas señales?
- **Funciones:** ¿Todas las células cumplen las mismas funciones con igual magnitud (absorción, secreción, excreción, respiración, excitabilidad, contractilidad, reproducción)? ¿Esto tendrá consecuencias sobre el grado de expresión de ciertas proteínas y el desarrollo de organoides, y por lo tanto sobre la morfología de cada tipo celular?

Reflexionar sobre estas cuestiones facilitará el aprendizaje de los fenómenos fisiológicos que se verifiquen en una célula.

1.5 Componentes subcelulares

A pesar de que las células de un mismo individuo comparten el material genético, la diferenciación celular hace que ciertos componentes subcelulares estén más o menos desarrollados en distintos tipos celulares, lo que permite cumplir con diferentes funciones y presentar distintos aspectos. En este sentido es conveniente prestar atención a la abundancia y disposición espacial de ciertos componentes en la célula.

El estudio de estos componentes incluye a la membrana plasmática, al núcleo, a organoides limitados por membrana como la mitocondria, el aparato de Golgi y los retículos endoplasmáticos liso y rugoso, al citoesqueleto, a inclusiones y otras estructuras. Además de la ultraestruc-

tura y funciones de cada componente celular, resulta interesante analizar su ubicación y disposición dentro de la célula. Como ejemplo, el retículo endoplasmático liso, que en las células musculares se denomina "retículo sarcoplasmático", se dispone rodeando a las miofibrillas del músculo esquelético de una manera muy particular y acumula el Ca^{2+} necesario para la contracción.

En esta sección se mencionarán algunas características de las membranas plasmáticas que se retomarán en otros capítulos. Para un estudio detallado de todas las estructuras que forman una célula se recomienda consultar textos de biología.

La **membrana plasmática** limita a la célula de su entorno (medios interno o externo) y cumple varias funciones: transporte de sustancias, unión y comunicación con otras células, recepción de señales y otras. Estas funciones están especializadas en ciertas células, así aparecen características estructurales particulares. En estos casos la membrana plasmática no es una cubierta sin accidentes sino que presenta relieves, depresiones, proyecciones, prolongaciones. Algunas de estas especializaciones se describen brevemente a continuación:

- **Microvellosidades:** prolongaciones inmóviles que permiten aumentar la superficie de la cara apical de la célula. Son abundantes en células con función absortiva como las que se encuentran en el riñón y en el intestino.
- **Cilios:** prolongaciones móviles que permiten empujar o barrer líquidos que se encuentran en contacto con la cara apical de la célula. Los cilios poseen un arreglo de microtúbulos, y enzimas ATPasas que funcionan permitiendo el movimiento activo y ordenado.
- **Cavéolas:** depresiones o invaginaciones de la membrana con forma de fosa que se observan en las células musculares lisas. Las cavéolas se relacionan por su cara interna con el retículo sarcoplasmático.
- **Túbulos T:** invaginaciones alargadas que atraviesan el citoplasma en forma transversal al eje mayor de la célula. Los túbulos T se encuentran en células musculares cardíacas y esqueléticas y se asocian internamente con el retículo sarcoplasmático. Gracias a la presencia de los túbulos T (o "túbulos transversos") un cambio eléctrico en la membrana plasmática se propaga rápidamente por todo el espesor de la célula.
- **Fenestraciones:** aberturas redondeadas que se presentan en ciertas células endoteliales. Estas aberturas pueden estar tabicadas por un diafragma compuesto por glucoproteínas que derivan del glucocáliz. Las fenestraciones representan sitios de transporte y aparecen en las células endoteliales de ciertos órganos pertenecientes a los sistemas digestivo, urinario y endócrino.
- **Criptas sinápticas:** depresiones o cavidades de la membrana de la célula muscular donde se alojan las terminaciones del axón de la neurona motora. Las criptas sinápticas son típicas de la placa motora terminal (zona de acercamiento entre el axón de la neurona motora y la célula muscular esquelética).

1.6 Clasificaciones *versus* complejidad

La clasificación es una herramienta ampliamente utilizada en biología para ordenar la diversidad y también como herramienta de construcción de conocimiento del sujeto. Los intentos de ordenamiento de la diversidad natural pueden basarse en dos supuestos antagónicos: el que afirma que las clasificaciones reflejan un orden natural y el que afirma que las clasificaciones plantean un orden artificial, por lo tanto las categorías son construidas por el hombre. En este último sentido las propuestas de ordenamientos alternativos o la existencia de objetos de estudio que no cumplen con todas las características de una dada categoría no deben sorprender sino que representan un llamado de atención para profundizar el estudio o descripción de un determinado objeto (Mengascini y Menegaz, 2005).

En un esquema clasificatorio se privilegian ciertas propiedades de los objetos en una simplificación que acentúa diferencias y semejanzas. Cuando se profundiza el estudio de un cierto objeto comienzan a aparecer rasgos que revelan la complejidad y ponen a prueba las categorías de las clasificaciones. En este contexto, en los distintos niveles de la escala de dimensiones, se encuentran ejemplos de estructuras que no son fáciles de clasificar ya que pueden pertenecer a más de una clase.

Como ejemplos se pueden mencionar órganos, tejidos, células y moléculas que ponen en tensión los agrupamientos habituales. Existen órganos que podrían clasificarse como pertenecientes a distintos sistemas: el ovario y el testículo forman parte del aparato reproductor, por ser los encargados de formar las gametas, pero también secretan hormonas por lo que se incluyen en el sistema endócrino. El estómago pertenece al aparato digestivo, y la tráquea al aparato respiratorio pero secretan hormonas a la sangre, por lo que cabe preguntarse qué rol juegan en el sistema endócrino. El tejido adiposo es un tejido conectivo especializado, cumple funciones de sostén y acumulación de lípidos como reserva de energía, pero secreta la hormona leptina, y la secreción de hormonas es una de las funciones típicas del tejido epitelial glandular. Células como las ependimarias o las olfatorias tienen características propias del tejido epitelial (revisten una superficie, pueden tener cilios, están en íntima aposición con otras células) y del tejido nervioso (las células ependimarias no están separadas por una membrana basal de otras células nerviosas, tienen el mismo origen embrionario que muchas otras células del sistema nervioso central; las células olfatorias tienen un axón asociado a células de Schwann). Las uniones entre células, que se describen como parte del complejo de unión de las células epiteliales, también están presentes en otros tejidos: las células musculares lisas o cardíacas, las células del tejido óseo o las células del perineuro, donde cumplen las mismas funciones (unión mecánica, comunicante u oclusiva entre dos células). Otro ejemplo lo constituyen las proteínas filamentosas que permiten el acortamiento celular (típico de las células musculares) que también aparecen en algunas células epiteliales (mioepiteliales que favorecen el vaciamiento de ciertas glándulas exócrinas) o en células del tejido conectivo (miofibroblastos que aparecen en procesos de cicatrización). Moléculas como la oxitocina o la noradrenalina pueden funcionar en el sistema nervioso como neurotransmisores cuando se liberan a un es-

pacio sináptico, pero funcionan como hormonas cuando se liberan a la sangre. Estos y otros muchos ejemplos ponen de manifiesto la complejidad de estos objetos de estudio. De esta manera, algunas estructuras del cuerpo son difíciles de clasificar, porque tienen características muy particulares y atraviesan las categorías establecidas para el estudio.

Entonces, lo importante, y la meta del estudio, es conocer la estructura, la organización y las funciones de cada objeto de estudio, utilizando la clasificación como herramienta para la sistematización del estudio y no como un fin en sí misma.

CAPÍTULO 2
Transporte

Pablo Mobili, Nicolás Enrique

2.1 Introducción

En las células animales, la membrana citoplasmática es la única estructura que se encuentra en contacto directo con el espacio extracelular. Esta membrana actúa como un límite efectivo que permite la coexistencia de dos espacios adyacentes de diferente composición: el líquido intracelular y el líquido extracelular. Los procesos celulares consumen sustratos y generan desechos constantemente, por lo que el mantenimiento de la constancia de la composición química del medio intracelular requiere un continuo intercambio de materia con el medio extracelular. Además, muchos de estos procesos celulares son regulados por señales que llegan desde el exterior celular. Es a través de la membrana citoplasmática que se produce el intercambio de materia e información con el medio circundante.

La capacidad de la membrana citoplasmática de actuar como barrera efectiva entre dos compartimentos acuosos está dada principalmente por su componente mayoritario, una doble capa de fosfolípidos que limita el pasaje de sustancias polares desde un compartimento hacia el otro.

Los fosfolípidos derivan del ácido fosfatídico, que consiste en un esqueleto de glicerol fosforilado al cual se unen dos colas de ácido graso a través de enlaces éster. En los fosfolípidos, el grupo fosfato puede estar esterificado a su vez con colina, etanolamina, inositol o serina. Las moléculas de fosfolípido contienen una región más soluble en agua (la cabeza polar, formada por el fosfato conjugado) y dos colas poco solubles en agua (las colas no polares o hidrofóbicas, formadas por los esqueletos hidrocarbonados de los ácidos grasos) (Figura 2.1).

En la membrana citoplasmática los fosfolípidos se encuentran formando una capa doble (o bicapa), orientados de manera tal que, en cada capa, las cabezas polares están en contacto con el medio acuoso (medio intra- o extracelular), mientras que las colas no polares se asocian formando interacciones hidrofóbicas con las moléculas vecinas de la misma capa y con las colas no polares de la otra capa, formando así el espesor de la bicapa (Figura 2.2).

Las membranas citoplasmáticas de las células animales, además de fosfolípidos, poseen otros lípidos como esfingolípidos y colesterol (Figura 2.1).

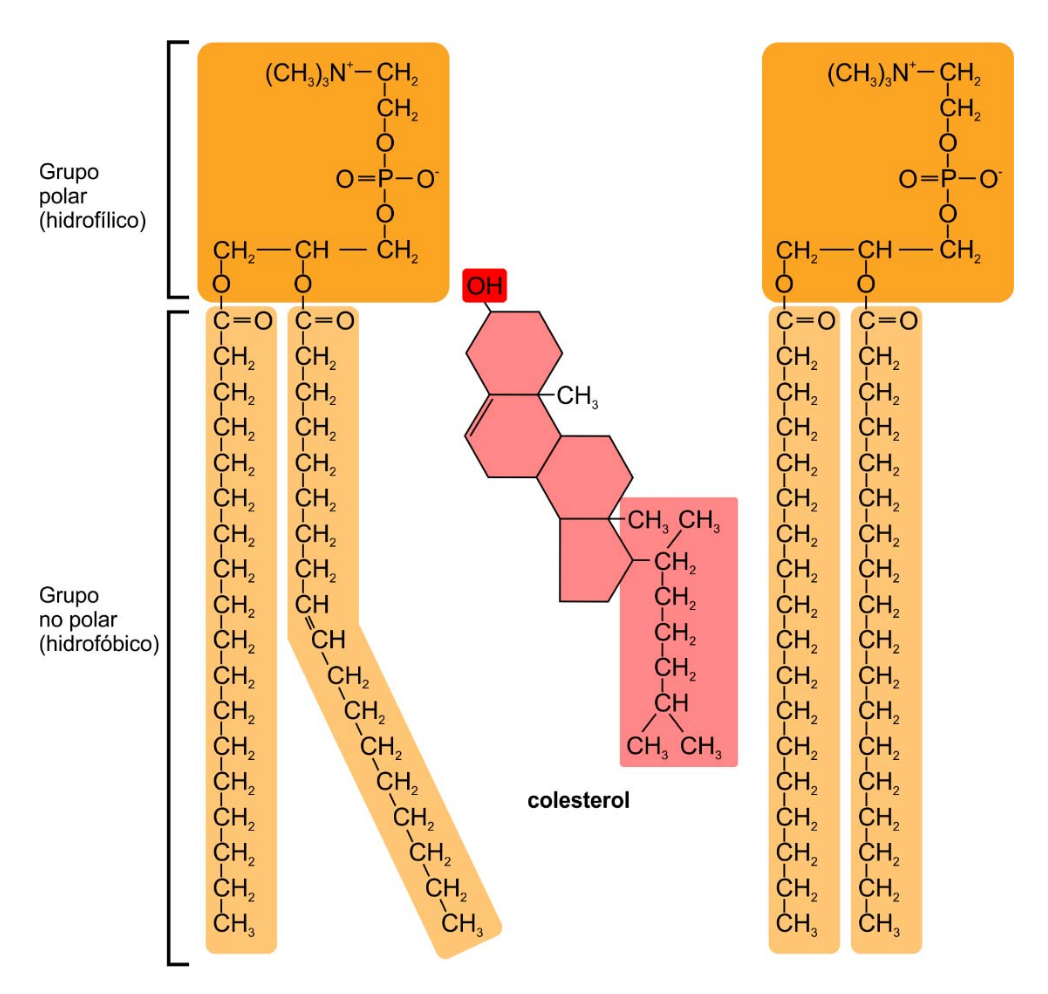


Figura 2.1: Fosfolípido insaturado, fosfolípido saturado y colesterol, presentados en escala.

Debido a la orientación de los lípidos que las forman, las caras intracelular y extracelular de la membrana plasmática son hidrofílicas, mientras que el núcleo central es altamente hidrofóbico.

Otro componente fundamental de la membrana citoplasmática de las células animales son las proteínas, que pueden hallarse asociadas a la superficie interna o externa de la membrana o integradas atravesando total o parcialmente la bicapa lipídica. Las proteínas de superficie se encuentran unidas mediante interacciones no covalentes con las cabezas polares de los fosfolípidos mientras que las que están integradas a la membrana forman interacciones hidrofóbicas entre los aminoácidos no polares de la proteína y las colas no polares de los lípidos (Figura 2.2). Como veremos más adelante, las proteínas que atraviesan completamente la membrana son fundamentales para el pasaje de sustancias polares desde el compartimento intracelular hasta el extracelular y viceversa.

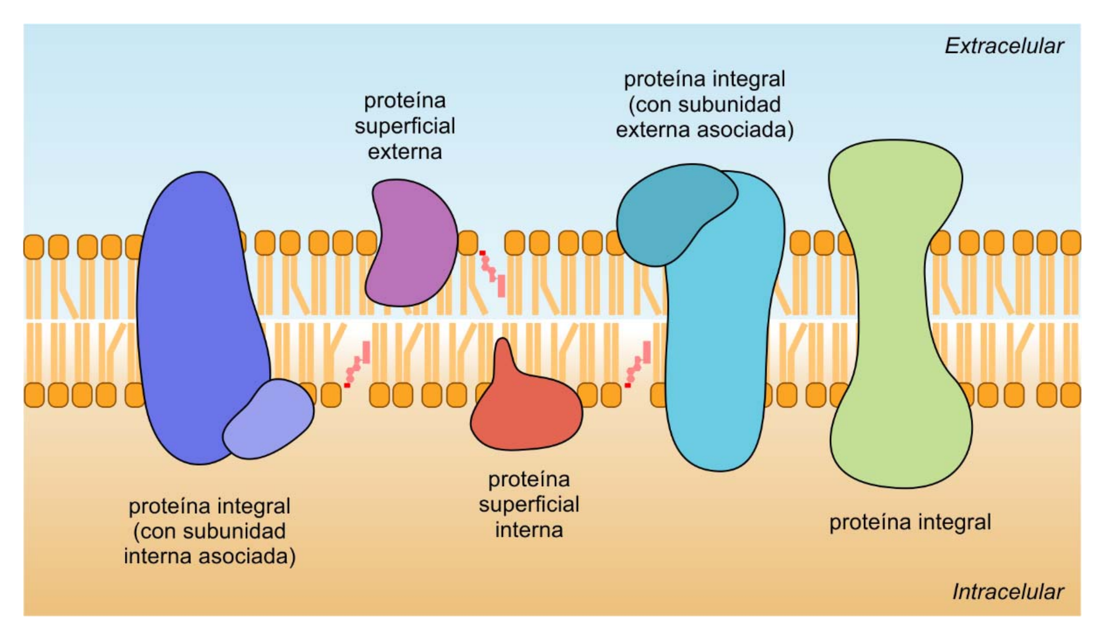


Figura 2.2: Representación de la membrana citoplasmática según el modelo del mosaico fluido, presentando fosfolípidos, colesterol y proteínas.

Numerosos fenómenos fisiológicos involucran el pasaje de sustancias a través de la membrana citoplasmática mediante diferentes mecanismos de **TRANSPORTE**. Los siguientes son algunos ejemplos relevantes:

- Pasaje de O_2 desde la luz del alveolo hasta el capilar sanguíneo (Aparato Respiratorio)
- Pasaje de CO_2 desde el capilar sanguíneo hasta la luz del alveolo (Aparato Respiratorio)
- Pasaje de glucosa desde la luz del duodeno hasta el capilar sanguíneo (Aparato Digestivo)
- Pasaje de glucosa desde el espacio extracelular hasta el interior de la célula (general)
- Pasaje de aminoácidos desde la luz del duodeno hasta el capilar sanguíneo (Aparato Digestivo)
- Pasaje de enzimas desde el interior de las células acinares pancreáticas hasta la luz del ducto pancreático (Aparato Digestivo)
- Pasaje de H^+ y Cl^- desde el interior de la célula parietal hasta la luz del estómago (Aparato Digestivo)

- Pasaje de insulina desde el interior de la célula β del páncreas hasta el espacio extracelular (Sistema Endócrino)
- Pasaje de colesterol desde la sangre hasta el interior celular (general)
- Pasaje de agua desde la luz de los túbulos renales hasta el capilar sanguíneo (Aparato Renal)
- Pasaje de Na^+ desde la luz de los túbulos renales hasta el capilar sanguíneo (Aparato Renal)

El primer objetivo de este capítulo es entender cuáles son los mecanismos que utilizan las distintas sustancias de interés fisiológico (agua, iones, glucosa, aminoácidos, oxígeno, CO_2, urea, colesterol y hormonas liposolubles, entre otras) para atravesar la membrana citoplasmática.

Para esto se debe considerar:

- La estructura y características de la membrana citoplasmática.
- Las propiedades de las sustancias a transportar (polaridad, carga, tamaño).
- Las condiciones existentes a ambos lados de la membrana.

En primer término, se analizará la **espontaneidad** del pasaje de una sustancia que se mueve desde el interior celular hasta el espacio extracelular o viceversa.

Las partículas microscópicas que se hallan en un medio fluido presentan un movimiento aleatorio (movimiento browniano) propulsado por la energía térmica. Si uno observa a una partícula de soluto en un fluido a lo largo del tiempo, verá que se desplaza de manera aleatoria por todo el espacio disponible, sin seguir ningún patrón particular. Sin embargo, si uno divide imaginariamente el medio total en distintos elementos de volumen y cuenta, a lo largo del tiempo, el número de partículas de soluto presentes en un dado elemento de volumen, observará que:

- Si la distribución de las partículas de soluto en el solvente es homogénea, todos los elementos de volumen contienen la misma cantidad de partículas. Debido al movimiento browniano de las partículas, algunas partículas saldrán de un elemento de volumen dado hacia los elementos de volumen vecinos, y otras partículas ingresarán desde dichos elementos. Como la cantidad de partículas es la misma en todos los elementos de volumen, existe la misma probabilidad de que las partículas entren o salgan, por lo que el número de partículas que entran y salen de ese volumen por unidad de tiempo impulsadas por el movimiento browniano es el mismo. Como resultado, el número de partículas en cada elemento de volumen se mantiene constante.
- Si la distribución de las partículas de soluto en el solvente no es homogénea, tendremos elementos de volumen donde las partículas se encuentren más concentradas que en otros. Debido al movimiento browniano de las partículas, algunas saldrán hacia los elementos de volumen vecinos, y otras partículas ingresarán desde dichos elementos. Sin embargo, en el elemento donde la concentración es mayor, habrá un mayor número de partículas que salen con respecto a las que entran a dicho elemento desde las zonas vecinas con menor concentración de partículas de solutos, por lo que el número de partícu-

las no se mantendrá constante en cada elemento. Existirá entonces una tendencia neta de las partículas de soluto a pasar del elemento más concentrado al más diluido, distribuyéndose finalmente de manera uniforme por todo el volumen (Figura 2.3).

A este desplazamiento neto espontáneo de partículas desde un sitio de mayor concentración hasta otro de menor concentración, debido al movimiento aleatorio impulsado por la energía térmica, se lo denomina **DIFUSION**.

Una vez que las moléculas de soluto se encuentren distribuidas de manera homogénea en la solución, el sistema se encontrará en equilibrio y, aunque los desplazamientos aleatorios de las moléculas individuales continuarán, ya no habrá flujo neto de soluto en ninguna dirección, como se indicó al inicio.

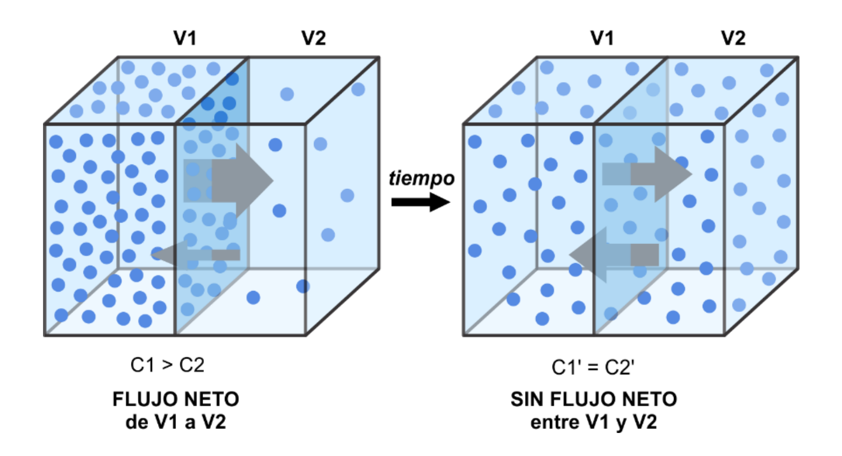


Figura 2.3: Difusión en un medio fluido. Un soluto en un medio fluido como el agua, presenta un movimiento aleatorio debido a la agitación térmica de las moléculas (movimiento Browniano). Si dividimos el espacio en pequeños elementos de volumen, entre dos elementos de volumen cualesquiera V1 y V2 adyacentes, el movimiento aleatorio hace que pasen moléculas de soluto de un elemento de volumen al otro en ambos sentidos. Si las concentraciones de soluto en dichos elementos de volumen son C1 y C2 respectivamente, tal que C1>C2, la probabilidad de que pasen moléculas de soluto de V1 a V2 es mayor que la probabilidad de que pasen de V2 a V1. Esto generará un flujo neto de moléculas de soluto desde V1 hasta V2. A ese flujo neto de partículas se le llama DIFUSIÓN.
A medida que pasa soluto de manera neta desde V1 hasta V2, la concentración de soluto de V1 disminuye (y con ello disminuye la probabilidad de que otras moléculas de soluto salgan de V1), mientras que la concentración de soluto en V2 aumenta (y con ello aumenta la probabilidad de que las moléculas de soluto pasen de V2 a V1). En algún momento se alcanza la situación en la que C1' = C2', y por lo tanto el pasaje de soluto de V1 a V2 será igualmente probable que el pasaje de soluto de V2 a V1, por lo que las concentraciones de soluto de V1 y V2 se mantendrán invariables en el tiempo y el sistema habrá alcanzado el equilibrio.

Los sistemas evolucionan espontáneamente hacia estados de menor energía. Si se conocen la energía libre del sistema al inicio (Gi) y al final (Gf) del proceso, se puede predecir si un determinado fenómeno se desarrollará o no en forma espontánea (considerando la presión y la temperatura constantes). Si la diferencia (ΔG) entre la energía libre final (G_f) y la energía libre inicial (G_i) del sistema es menor que cero, ese proceso puede ocurrir espontáneamente:

$$\Delta G_{(i \to f)} = (G_f - G_i) < 0 \quad \text{es } \textit{\textbf{espontáneo}}$$

Por lo contrario, si el ΔG del proceso es mayor que cero, el fenómeno planteado no podrá ocurrir de manera espontánea.

La energía libre molar parcial de un soluto en una fase determinada es el **potencial electroquímico (μ)** de dicho soluto. Por lo tanto:

$G = \mu . n$

n = número de moles

μ = potencial electroquímico (o G molar)

$$\mathbf{\mu = \mu_0(P,T) + R.T.ln(C) + z.F.}\boldsymbol{E}$$

donde:

R = constante del gas ideal ($8{,}31\ J\ .\ K^{-1}\ .\ mol^{-1}$)

T = temperatura absoluta (310 K a 37 ºC)

C = concentración molar del soluto ($mol\ .\ l^{-1}$) (estrictamente, correspondería actividad)

z = carga del soluto

F = constante de Faraday (96500 coulombios . mol^{-1})

E = potencial eléctrico de la fase o compartimento (voltios).

Si consideramos un soluto que se mueve entre el interior celular y el espacio extracelular, se puede definir el **μ** de dicho soluto para cada compartimento:

$\mu_i = \mu_0(P,T) + R.T.ln(C_i) + z.F.E_i$ espacio **i**ntracelular

$\mu_e = \mu_0(P,T) + R.T.ln(C_e) + z.F.E_e$ espacio **e**xtracelular

Si se plantea el proceso de **salida del soluto**, desde el espacio intracelular al espacio extracelular, el **estado final** será **afuera** y el **estado inicial** será **adentro**. Entonces, la diferencia de potencial electroquímico (Δμ) para la salida de soluto puede expresarse:

$$\Delta\mu_{(i\rightarrow e)} = \mu e - \mu i = R.T.ln(C_e) + z.F.E_e - R.T.ln(C_i) - z.F.E_i$$

Ecuación que se puede reordenar como:

$$\Delta\mu_{(i\rightarrow e)} = R.T.ln(C_e/C_i) + z.F.(E_e - E_i) \quad (1)$$

La **diferencia de potencial electroquímico** puede interpretarse como un tipo de energía potencial que podría utilizarse para realizar trabajo en la célula. Tiene un componente de energía química, que proviene del gradiente[2] de concentración del soluto entre ambos comparti-

[2] NOTA DE VOCABULARIO: cuando existe una diferencia en la magnitud de una propiedad continua a lo largo del espacio se dice que hay un "gradiente" de dicha propiedad (p. ej.: si una sustancia presenta una diferencia en la concentración o en el potencial electroquímico entre dos regiones, se dice que tiene un "gradiente de concentración" o un "gradiente de potencial electroquímico").

mentos, y un componente de energía electrostática, que depende de la carga eléctrica del soluto y de la diferencia de potencial eléctrico entre ambos compartimentos.

Definimos como **potencial de membrana**[3] (V_m) a la diferencia de potencial eléctrico que existe entre el líquido en contacto con la cara intracelular de la membrana y el líquido en contacto con la cara extracelular de la membrana ($Vm = E_i - E_e$). Si reemplazamos en (1) el término ($E_e - E_i$) por $-V_m$, obtenemos entonces la siguiente ecuación:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e/C_i) - z.F.V_m \qquad (2)$$

Como se mencionó anteriormente, la salida de soluto desde la célula será espontánea cuando $\Delta G_{(i \rightarrow e)}$ **< 0.** Y como $\Delta G_{(i \rightarrow e)} = n \, . \, \Delta\mu_{(i \rightarrow e)}$, entonces la **salida** del soluto será **espontánea** cuando $\boldsymbol{\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} < 0}$, lo cual dependerá del balance entre el componente químico [$R.T.\ln(C_e/C_i)$] y el componente electrostático [$z.F.V_m$].

Mientras exista una diferencia en el potencial electroquímico del soluto a ambos lados de la membrana, el soluto siempre tenderá a moverse espontáneamente desde el lugar donde su µ es mayor hasta el lugar donde su µ es menor. Si este movimiento ocurre, los en ambos compartimentos tenderán a igualarse, y cuando esto suceda el soluto se encontrará en equilibrio electroquímico y ya no habrá movimiento **neto** espontáneo en ninguno de los dos sentidos. Es decir, **el soluto tiende a moverse de manera espontánea en el sentido en el que se acerca al estado de equilibrio electroquímico**[4].

Debe notarse que la diferencia de energía libre sólo indica en qué **sentido** se produciría el pasaje neto **espontáneo** del soluto a través de la membrana si la membrana permitiera el pasaje de dicho soluto, pero no predice si efectivamente se producirá este pasaje. El pasaje del soluto a través de la membrana dependerá de la permeabilidad que presente dicha membrana para el soluto.

La **permeabilidad** (P) de la membrana para un determinado soluto depende de factores propios del soluto (naturaleza química polar o no polar, carga, peso molecular), de la membrana (estructura, composición, espesor) y de la relación entre ambos (solubilidad del soluto en la membrana). La permeabilidad es un parámetro empírico y sus unidades corresponden a una velocidad lineal (distancia/tiempo). Cuando una membrana permite que una sustancia pase a través de ella, se dice que la membrana es "permeable" a dicha sustancia. A una sustancia que puede atravesar una membrana se le dice que es "permeante" para esa membrana.

Si la permeabilidad de la membrana para el soluto es cero, no se verificará pasaje de soluto a través de la misma, aunque exista una diferencia de potencial electroquímico a ambos lados de dicha membrana.

---

[3] La génesis del potencial de membrana se discutirá más adelante, en el Capítulo 3

[4] NOTA DE VOCABULARIO: cuando una sustancia se mueve en el sentido en el que pasa desde una región donde su concentración o su potencial electroquímico es mayor hasta otra región donde dicha propiedad es menor, se dice que se mueve "a favor del gradiente de ...".

El análisis de la espontaneidad del proceso de transporte es diferente dependiendo de la carga del soluto.

2.1.1 Movimiento espontáneo de solutos no cargados

La situación más sencilla se da para **solutos no cargados,** donde z = 0 y por lo tanto, el segundo término de la ecuación (2) es nulo, quedando reducida a:

$$\Delta\mu_{(i\rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e/C_i)$$

La **salida** del soluto no cargado será espontánea cuando $\Delta\mu_{(i\rightarrow e)} < 0$, lo cual ocurrirá siempre que $C_e < C_i$.

Si se realiza el mismo análisis para la entrada a la célula de un soluto no cargado (el estado final será adentro y el estado inicial será afuera), se obtiene que el proceso es espontáneo cuando $\Delta\mu_{(e\rightarrow i)} = R.T.\ln(C_i/C_e) < 0$, es decir cuando $C_e > C_i$.

Por lo tanto, el soluto **no cargado** tenderá a moverse espontáneamente de forma neta[5] desde la zona en la que su concentración es mayor hacia la zona donde su concentración es menor.

Como se indicó antes, cuando el flujo de soluto se realiza a través de la membrana celular, independientemente de que sea espontáneo o no, la magnitud del mismo depende de la **permeabilidad** que presente la membrana para dicho soluto. Por lo tanto, si se conoce la permeabilidad de la membrana para el soluto, una vez que se determina en qué sentido se desarrollará el transporte espontáneo de soluto mediante la ecuación (1), se puede calcular el **flujo difusional neto de soluto**, es decir, la cantidad de soluto que podría atravesar mediante el mecanismo de difusión un área determinada de membrana por unidad de tiempo.

Podemos realizar un análisis más detallado de este caso, en forma similar a la desarrollada por Johnson en su libro *Essential Medical Physiology* (3rd Ed, 2003, Elsevier):

Supongamos que tenemos un recipiente que está dividido a la mitad por un tabique de espesor **Δx** que contiene un gran número de perforaciones, y que el área conjunta total de dichas perforaciones es **A**. En una mitad del recipiente (compartimento 1) hay una solución acuosa de un soluto no cargado, con una concentración molar C_1; en la otra mitad del recipiente (compartimento 2) hay una solución acuosa del mismo soluto no cargado, con una concentración molar C_2. Supongamos que los compartimentos son grandes (y están bajo agitación continua), de

[5] NOTA DE VOCABULARIO: se llama **flujo neto** a la resultante de los flujos de soluto en dos sentidos opuestos (por ejemplo, entrando y saliendo de la célula) debidos a los movimientos aleatorios de soluto.

manera que la concentración de soluto en cada uno se mantiene constante (y uniforme) a lo largo del tiempo.

Debido a la energía térmica, las moléculas de soluto están en continuo movimiento aleatorio, y algunas moléculas de soluto pueden entrar en un orificio y salir por el extremo contrario, hacia el compartimento vecino. Por lo tanto, pueden pasar moléculas desde 1 hacia 2 y desde 2 hacia 1 a través de los orificios. La velocidad a la que ocurre el pasaje de moléculas de soluto desde el compartimento 1 hasta el 2 debido a los movimientos aleatorios será proporcional a la concentración de soluto en 1 (C_1) ya que la concentración del soluto determina la probabilidad de que una molécula de 1 entre a uno de los orificios. De la misma manera, la velocidad a la que ocurre el pasaje de moléculas de soluto desde el compartimento 2 hasta el 1 será proporcional a la concentración de soluto en 2 (C_2). Entonces la velocidad neta de migración de las moléculas será proporcional a la diferencia entre C_1 y C_2.

Además, la velocidad de migración será directamente proporcional al área total de los orificios (A) e inversamente proporcional al espesor de la barrera (Δx) que los solutos deben atravesar.

Teniendo en cuenta todo esto, podemos decir que la **velocidad neta de migración (Vel)** del soluto desde 1 hasta 2 a través de la barrera será:

$$\mathbf{Vel = D.A.(C_1 - C_2) / \Delta x} \qquad (3)$$

donde D: coeficiente de difusión del soluto (unidades: área / tiempo)

El **coeficiente de difusión** del soluto (D) depende de la naturaleza del soluto (p. ej. su peso molecular) y de la naturaleza del medio en el cual el soluto se mueve (p. ej. viscosidad, temperatura, presión). El coeficiente D será menor cuanto mayor sea el peso molecular del soluto y cuanto mayor sea la viscosidad del medio a través del cual difunde.

Si dividimos por el área A, obtenemos la velocidad neta de migración de soluto por unidad de área, o **flujo neto (F)**.

Entonces:

$$\mathbf{F = D.(C_1 - C_2) / \Delta x} \qquad (4) \quad \text{(unidades de F: masa / área.tiempo)}$$

En este ejemplo supusimos que los poros son tan grandes que el soluto no interactúa con el poro a través del cual migra, por lo que sería homólogo a la difusión del soluto en un solvente.

Sin embargo, si consideramos un soluto atravesando una membrana lipídica, es necesario considerar la interacción del soluto con la membrana, la cual será diferente a su interacción con el medio acuoso o solvente, afectando las concentraciones de soluto en las cercanías de las interfases agua-lípido de la membrana.

Para tener en cuenta este efecto, se debe considerar el **coeficiente de partición aceite/agua del soluto (β)**, el cual muestra cómo se reparte un soluto cuando éste se pone en contacto con una mezcla aceite/agua. Si se tiene en cuenta la interacción del soluto con la membrana, la ecuación (4) queda:

$$F = D.\beta.(C_1\text{-}C_2) / \Delta x \qquad (5)$$

Donde β se utiliza como estimador del coeficiente de partición entre la membrana y el agua. Es decir que, para el mismo espesor de membrana y gradiente de concentración de soluto, si el soluto es hidrofílico (β <1) el flujo neto a través de la membrana será menor que si el soluto es hidrofóbico (β >1).

Como en las membranas celulares resulta difícil determinar el coeficiente de partición de un soluto en la interfase membrana/agua, el D y el Δx de manera individual, estos términos son agrupados en un sólo coeficiente llamado **permeabilidad** (P), de manera tal que:

$$P = D.\ \beta / \Delta x$$ (unidades de P: distancia/tiempo).

Teniendo en cuenta los factores que determinan P, se observa que entre solutos con pesos moleculares similares, la permeabilidad a través de la membrana lipídica será mayor para aquellos que tengan mayor coeficiente de partición membrana/agua, es decir, para aquellos que sean más lipofílicos (o menos hidrofílicos). Por otro lado, entre solutos con similar lipofilicidad, la permeabilidad a través de la membrana lipídica será mayor para aquellos que tengan menor tamaño molecular (mayor D).

En general, como las variaciones de β entre solutos pueden ser de varios órdenes de magnitud mayores que las variaciones de peso molecular, los coeficientes de permeabilidad para la difusión simple de solutos no cargados dependen más fuertemente de las diferencias en β que de las diferencias en peso molecular (Figura 2.4).

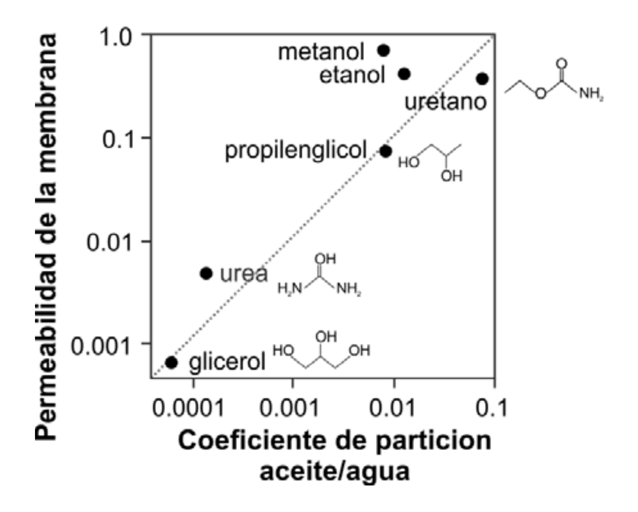


Figura 2.4: Relación entre la permeabilidad de la membrana citoplasmática a un soluto y el coeficiente de partición aceite / agua de dicho soluto, para diferentes solutos de interés biológico. Obsérvese la buena correlación entre ambos parámetros, independientemente de las dimensiones moleculares de cada soluto. Ejemplo: el uretano tiene dimensiones similares al glicerol pero es más liposoluble, y como resultado es 1000 veces más permeable.

Por lo tanto, reemplazando la expresión para la permeabilidad en la ecuación (5), nos queda:

$$F = P\ (C_1\text{-}C_2)$$

Esta expresión es la ecuación de la **difusión simple** de Fick, que establece que el **flujo neto (F) de un soluto no cargado** entre dos puntos separados por una membrana es proporcional al gradiente de concentración de dicho soluto a los lados de la membrana. El coeficiente de proporciona-

lidad es la permeabilidad (P) que presenta la membrana para el soluto. Es decir, un soluto liposoluble (permeabilidad P distinta de 0), distribuido asimétricamente a los lados de una membrana biológica (presencia de un gradiente de concentración), podrá atravesar dicha membrana espontáneamente generando un flujo neto de soluto desde la región donde está más concentrado hacia la región donde está menos concentrado. Este flujo neto continuará hasta que la distribución del soluto a ambos lados de la membrana sea homogénea (condición de equilibrio).

El proceso de transporte mediante el cual se produce el flujo neto pasivo de un **soluto liposoluble no cargado**, directamente a través de la bicapa lipídica es un tipo de **difusión simple**[6]**.** Ocurre siempre a favor del gradiente de concentración del soluto transportado y no requiere de un aporte de energía metabólica[7], ya que es el resultado del movimiento aleatorio de las moléculas impulsadas por la energía térmica.

Otro punto importante a tener en cuenta es que, debido a que el proceso de difusión depende del movimiento aleatorio de las partículas en el medio en que están disueltas, este proceso es muy lento, por lo que sólo es eficiente en distancias muy cortas.

El gradiente de concentración es la fuerza impulsora necesaria para que se produzca el flujo neto del soluto no cargado desde la región donde está más concentrado hacia la región donde está menos concentrado ($\Delta G<0$, espontáneo). Este flujo neto tiende a llevar al sistema a una situación final de equilibrio con una distribución homogénea del soluto a ambos lados de la membrana.

Es importante notar que, para un gradiente de concentración de soluto dado, si la membrana presenta una alta permeabilidad al soluto, el flujo neto (F) será elevado y el estado de equilibrio se alcanzará en un tiempo corto. Mientras que, si la membrana presenta una permeabilidad baja al soluto, el flujo neto (F) será más reducido y el equilibrio se alcanzará en tiempos más largos. Esta dependencia de la magnitud del flujo pasivo con la permeabilidad se analizará más adelante, en las secciones 2.2 y 2.3.

2.1.2 Movimiento espontáneo de solutos cargados

Si el soluto es **cargado** ($z \neq 0$) el segundo término de la ecuación (2) también se debe considerar, por lo que el cambio en el potencial electroquímico del soluto al salir de la célula estará dado por:

$$\Delta\mu_{(i\rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e/C_i) - z.F.V_m$$

El movimiento espontáneo neto de un soluto cargado a través de la membrana dependerá no sólo de la diferencia de concentración de dicho soluto sino también de la diferencia de potencial eléctrico a ambos lados de la membrana. Como los solutos cargados, debido a

[6] Se usa el término difusión **simple** para destacar el hecho de que ocurre a través de los fosfolípidos de la membrana sin necesidad de una proteína de membrana que actúe como transportadora del soluto, diferenciándose de esta manera de otros flujos espontáneos de solutos que sí requieren de la presencia de una proteína transportadora, como p. ej. la difusión **facilitada**, ver sección 2.3.2.

[7] A los procesos que no requieren del aporte de energía metabólica se los denomina **procesos pasivos**; por lo contrario, cuando el proceso requiere la utilización de energía metabólica se lo denomina proceso activo, como se verá en la sección 2.5.

su baja lipofilicidad, en general tienen una baja permeabilidad en las membranas celulares, su capacidad de atravesar la membrana a velocidades compatibles con los procesos celulares está vinculada a la existencia de proteínas que brinden una vía de pasaje de un compartimento al otro (permeabilidad distinta de 0), facilitando de esta manera el transporte. Esta situación se analizará más adelante, en la sección 2.4.

Utilizando los conceptos fundamentales presentados en las secciones anteriores, a continuación, se analizarán en particular los procesos de transporte de distintas sustancias de interés fisiológico:

2.2 Transporte de gases (O_2 y CO_2) y otros solutos liposolubles

Siendo el O_2 y el CO_2 solutos no cargados liposolubles, y por lo tanto permeantes a través de las membranas celulares, la ley de Fick puede aplicarse para describir los flujos de estos solutos a través de la membrana celular.

Dado que el O_2 es un soluto no cargado, el sentido de su movimiento espontáneo a través de la membrana depende únicamente de la diferencia de concentración de O_2 entre el medio intracelular y el medio extracelular. En una célula animal, el O_2 se está consumiendo continuamente para generar ATP, por lo que existe una mayor concentración de O_2 en el medio extracelular que en el intracelular, y esto hace que la entrada de O_2 a la célula esté favorecida termodinámicamente. Dado que la molécula de O_2 es no polar, la bicapa lipídica presenta una elevada permeabilidad para este soluto. El O_2 puede entonces moverse pasivamente por difusión simple, pasando entre las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos de

la membrana (Figura 2.5).

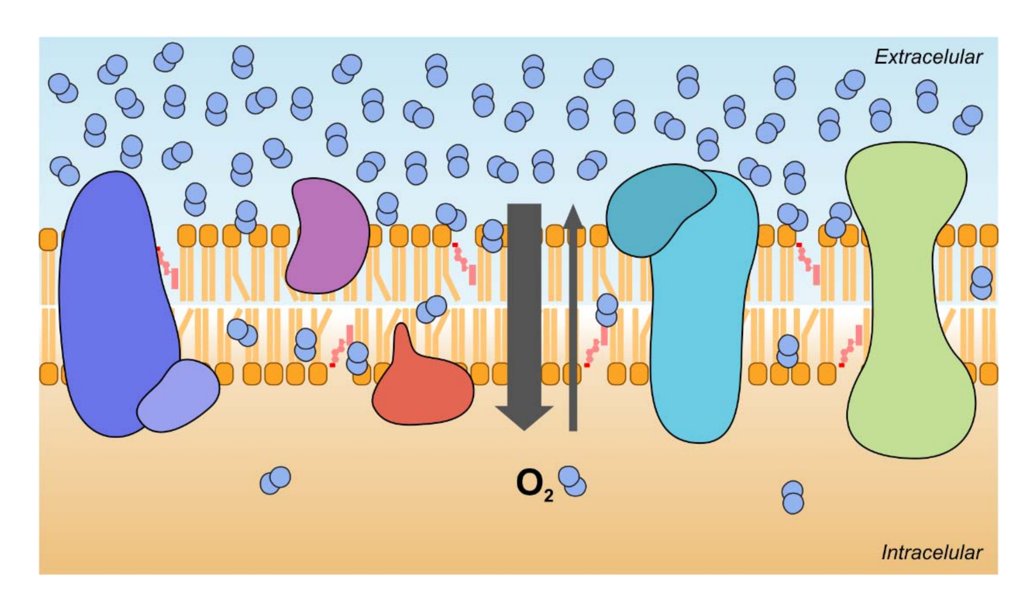


Figura 2.5: Flujo de oxígeno (O_2) entre el medio extracelular y el medio intracelular mediante difusión simple a través de la bicapa lipídica.

De manera inversa, debido al metabolismo oxidativo, las células están continuamente produciendo CO_2. Por esta razón, existe una mayor concentración de CO_2 en el medio intracelular que en el extracelular, y esto hace que la salida de CO_2 desde la célula esté favorecida termodinámicamente. Dado que la molécula de CO_2 no es polar, la bicapa lipídica presenta una elevada permeabilidad para este soluto. El CO_2 puede entonces moverse pasivamente por difusión simple, pasando entre las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos de la membrana.

Otros ejemplos de solutos fisiológicos que usan este mecanismo de transporte a través de las membranas biológicas son: monóxido de nitrógeno (NO), hormonas esteroides y vitaminas lipofílicas.

2.3 Transporte pasivo de sustancias polares no cargadas

Numerosas funciones celulares requieren el transporte transmembrana de sustancias que, por su naturaleza polar, tienen muy baja permeabilidad en la membrana celular, entre ellos el agua y diversos solutos como glucosa, aminoácidos, etc.

El flujo pasivo de estas sustancias hidrofílicas a una velocidad compatible con los requerimientos de las células, requiere de la presencia de proteínas de transmembrana que faciliten su pasaje de un lado al otro de la membrana citoplasmática.

Cuando las sustancias transportadas **no tienen carga eléctrica neta**, los flujos **pasivos** mediados por proteínas transportadoras de membrana se generan a **favor del gradiente de concentración de la sustancia.** De esta manera, la energía potencial acumulada en el gradiente **de concentración** es la que impulsa el transporte neto de la sustancia.

2.3.1 Transporte de agua – Ósmosis

Si dos compartimentos que contienen agua se encuentran comunicados por algún medio que permita el pasaje del agua entre ambos de manera libre, las moléculas de agua, por agitación térmica y moviéndose al azar, podrán pasar desde un compartimento al otro en ambos sentidos, de forma análoga a lo explicado anteriormente para un soluto. Si la presión hidrostática en uno de los compartimentos es mayor que en el otro, el agua se moverá de forma neta desde el sitio donde la presión hidrostática es mayor hasta donde la presión hidrostática es menor (Figura 2.6A).

Por otra parte, en una solución acuosa la presencia de moléculas de soluto (independientemente de su naturaleza) modifica la concentración de agua. Por lo tanto, dos soluciones acuosas que contengan concentraciones diferentes de soluto, puestas en contacto a través de una membrana permeable al agua, generan un gradiente de concentración de agua que servirá como fuerza impulsora para que se genere un **flujo neto de agua a favor del gradiente de concentración de agua,** fenómeno denominado **flujo osmótico** u **ósmosis**.

Supongamos que tenemos dos compartimentos con dos soluciones acuosas con la misma presión hidrostática y diferente concentración de soluto, separados por una membrana **permeable a las moléculas de agua e impermeable al soluto**[8]**,** tal como se presenta en la Figura 2.6B. El gradiente de concentración de agua lo establece la cantidad de soluto disuelto en las soluciones a ambos lados de la membrana; por lo tanto, la solución más concentrada en soluto tiene la menor concentración de agua y la solución de menor concentración de soluto posee la mayor concentración de agua. El **flujo neto** de agua se verificará desde la solución más diluida en soluto hacia la solución más concentrada en soluto.

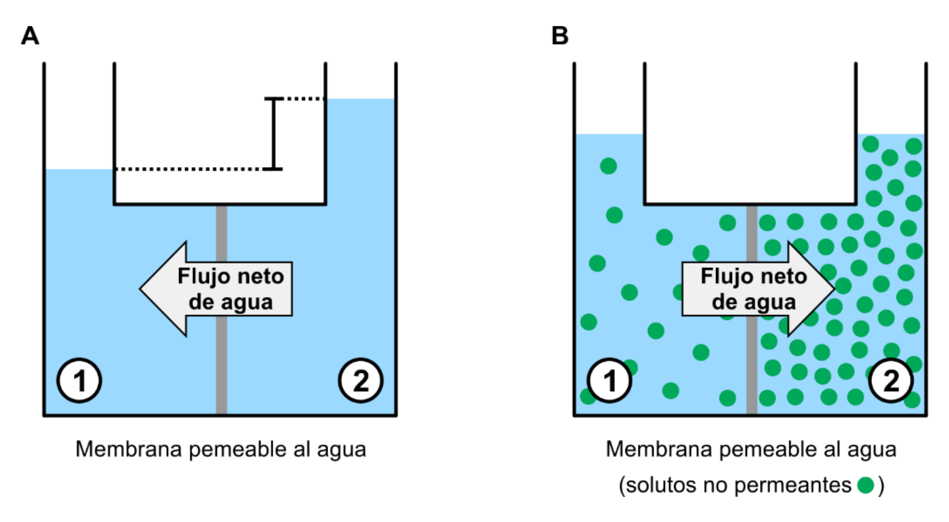


Figura 2.6: Representación esquemática del flujo neto de agua entre dos soluciones con diferencia de presión hidrostática (A) y con diferente concentración de soluto no permeante (B), separadas por una membrana permeable solamente al agua.

Si las paredes de los compartimentos que alojan las soluciones son distensibles, como se muestra en la Figura 2.7A, el flujo neto de agua que va desde el compartimento 1 hasta el compartimento 2, generado por la diferencia en la concentración de agua entre las dos soluciones a los lados de la membrana, provocará un aumento de volumen en el compartimento 2, disminuyendo la concentración del soluto en ese ambiente. Al mismo tiempo, en el compartimento 1 disminuirá el volumen y aumentará la concentración de soluto. Debido al flujo neto de agua desde 1 hacia 2, el sistema evolucionará de manera que el gradiente de concentración de agua (y también el de concentración de soluto) serán cada vez menores, hasta que dichos gradientes se anulen. En ese momento, el sistema habrá alcanzado un estado de equilibrio (con nuevos volúmenes de los compartimentos) y ya no habrá más flujo neto de agua en ningún sentido.

En cambio, si los compartimentos que alojan las soluciones son cerrados y rígidos, como se muestra en la Figura 2.7B, el flujo de agua desde 1 hacia 2 provocará un aumento de presión hidrostática en 2, y esta diferencia de presión hidrostática impulsará al agua desde 2 hacia 1. En algún momento, en el compartimento 2 se alcanzará una presión hidrostática tal que el flujo

[8] NOTA DE VOCABULARIO: a una membrana permeable a las moléculas de agua e impermeable al soluto se la llama **membrana semipermeable**.

de agua desde 2 hacia 1 debido a la diferencia de presión hidrostática se equilibrará con el flujo de agua desde 1 hacia 2 debido a la diferencia de concentración de agua. En ese momento se alcanzará un estado de equilibrio que se mantendrá en el tiempo, sin flujo neto de agua en ningún sentido. A diferencia de la situación anterior, en este caso el equilibrio no se debe a que el agua tiene la misma concentración en ambos compartimentos, sino a que la menor concentración de agua en el compartimento 2 es compensada con una mayor presión hidrostática del agua en dicho compartimento.

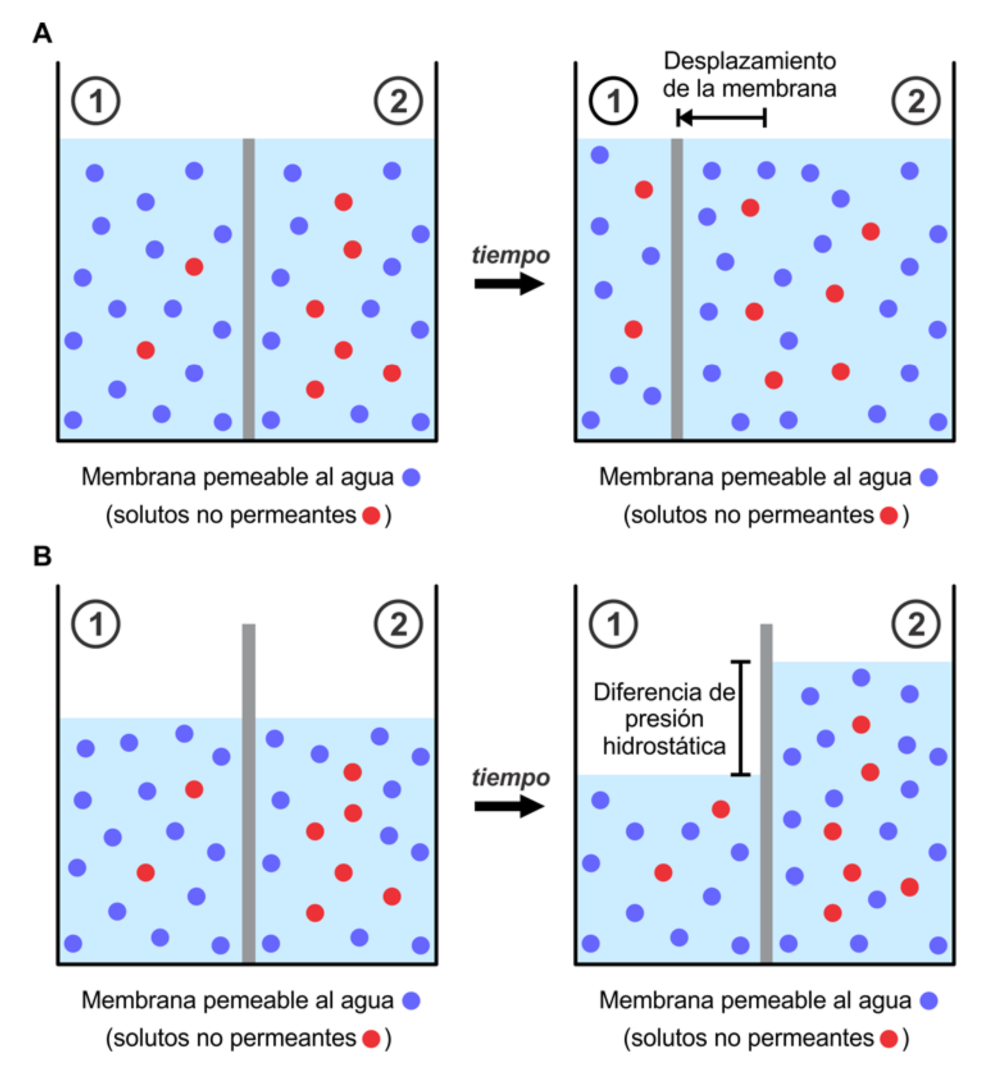


Figura 2.7: Representación esquemática del flujo neto de agua que se genera entre dos compartimentos que contienen soluciones con diferente concentración de soluto no permeante separadas por una membrana permeable solamente al agua. (A) Si los compartimentos son distensibles, el flujo de agua genera un cambio en el volumen de los mismos. (B) Si los compartimentos son rígidos el flujo de agua genera un cambio en la presión de los mismos.

Para explicar el transporte de agua desde el punto de vista termodinámico, se debe tener en cuenta que, para el agua, el potencial electroquímico (μ) está dado por la expresión:

$$\mu = \mu_0 + R.T.\ln(a) + V_p.P_H \qquad (6)$$

donde:

μ_0 : potencial electroquímico estándar

R: constante de los gases ideales (R = 0,082 l.atm/K.mol)

T: temperatura absoluta (K)

a: actividad del agua

V_p: volumen molar parcial del agua

P_H: presión hidrostática

Es decir, el potencial electroquímico del agua depende no sólo de la actividad (concentración) del agua en el compartimento en que se encuentra sino también de la presión hidrostática en dicho compartimento. Como la actividad del agua depende de la concentración de partículas de soluto disueltas en ella, para soluciones diluidas se puede reemplazar:

$$\ln(a) = - V_p \, . \, C$$

donde C es la concentración molar de partículas de soluto disueltas en el agua. Reemplazando en (6) queda:

$$\mu = \mu_0 - R.T.V_p.C + V_p.P_H \quad = \quad \mu_0 + V_p.\,(P_H - R.T.C) \qquad (7)$$

Para analizar la espontaneidad de un flujo de agua en un determinado sistema debemos analizar el cambio de potencial electroquímico asociado a dicho pasaje de agua. Por ejemplo, si planteamos el flujo de agua desde el compartimento 2 al compartimento 1, el cambio de potencial electroquímico del agua está dado por:

$$\begin{aligned} \Delta\mu_{(2\rightarrow1)} &= \mu_1 - \mu_2 \\ &= V_p.(P_{H1} - R.T.C_1) - V_p.(P_{H2} - R.T.C_2) \\ &= V_p.[(P_{H1} - P_{H2}) + R.T.(C_2 - C_1)] \qquad (8) \end{aligned}$$

Si $\Delta\mu_{(2\rightarrow1)} < 0$ habrá flujo neto espontáneo de agua desde 2 hasta 1, y si $\Delta\mu_{(2\rightarrow1)} > 0$ el flujo neto espontáneo de agua será desde 1 hasta 2.

Cuando $\Delta\mu_{(2\rightarrow1)} = 0$ el sistema habrá alcanzado el equilibrio y no habrá flujo neto de agua entre los compartimentos en ningún sentido.

Reordenando a partir de (8) obtenemos que, para el agua, la condición de equilibrio se alcanza cuando:

$$(P_{H1} - P_{H2}) = R.T.(C_1 - C_2) \qquad (9)$$

Es decir, la diferencia de presión hidrostática necesaria para detener el flujo osmótico de agua es proporcional a la diferencia en la concentración de soluto de ambas soluciones.

En el caso de un compartimento 1 con una solución acuosa de concentración de soluto C_1 separado por una membrana semipermeable de un compartimento 2 con agua pura ($C_2 = 0$), la diferencia de presión hidrostática necesaria para oponerse al flujo de agua generado por el gradiente de concentración de soluto es proporcional a la concentración de soluto en 1. Remplazando a partir de (9):

$$(P_{H1} - P_{H2}) = R.T.C_1$$

Este valor de diferencia de presión hidrostática (P_{H1} - P_{H2}), que se opone al flujo de agua impulsado por la diferencia en la concentración de soluto, se denomina **presión osmótica (π).** Es decir:

$$\pi = R.T.C_1 \qquad (10)$$

Cuando los solutos son disociables, un mol de soluto puede generar más de un mol de partículas disueltas, y esto debe ser tenido en cuenta ya que la presión osmótica es proporcional a la concentración de partículas independientes en solución.

Para el caso de una solución acuosa de concentración $\mathbf{C_1}$ (mol/l) de un soluto que se disocia en **i** partículas, en la ecuación (10) debe multiplicarse a C_1 por el valor i, y además debe incluirse un término que tenga en cuenta las interacciones entre las partículas (**Φ**). De esta manera se obtiene la ecuación de Van't Hoff, que permite calcular la presión osmótica (**π**) que se genera cuando un compartimento rígido que contiene una solución acuosa de concentración de soluto C_1 se encuentra separado por una membrana semipermeable de un compartimento rígido que contiene agua pura ($C_2 = 0$):

$$\pi = R.T.\Phi.i.C_1$$

R: constante de los gases ideales (R = 0,082 l.atm/K.mol)

T: temperatura absoluta (K)

C_1: concentración molar del soluto en el compartimento 1

i: número de iones producidos por la disociación del soluto en el medio acuoso

Φ: coeficiente osmótico (factor de corrección empírico que considera la interacción entre las partículas de soluto. Φ vale cerca de 1 cuando no hay interacción entre las partículas y se comportan como partículas totalmente independientes, lo cual ocurre en soluciones muy diluidas; Φ toma valores menores a 1 cuando luego de la disolución del soluto las partículas se mantienen parcialmente atraídas unas con otras).

La unidad que se utiliza para referirse al número de partículas independientes disueltas en una solución, se denomina **osmol**. El número de osmoles (osm) es igual al número de moles multiplicado por el número de partículas independientes en que se disocia cada molécula de soluto al disolverse (**Φ.i**). La **osmolaridad** de una solución es el número de osmoles por litro de solución.

Si hay un solo soluto presente en la solución entonces:

Osmolaridad de la solución = Φ.i.C [9]

[9] Una solución 0,1 M de NaCl contiene 0,1 mol de NaCl por litro de solución, y como el NaCl se disocia en Na^+ y Cl^-, el número de partículas que originaría el NaCl es $i_{NaCl} = 2$; por lo tanto, si los iones Na^+ y Cl^- fueran completamente independientes entre sí (es decir, si no hubiera ningún tipo de interacción entre ellos) una solución 0,1 M de NaCl contendría 0,1 mol/l x 2 = 0,2 moles/l de partículas independientes.
Sin embargo, como las partículas de carga opuesta tienen una atracción parcial entre ellas, no se comportan como totalmente independientes y para obtener el número de partículas independientes se debe incluir el coeficiente osmótico Φ, que para el NaCl en concentración 0,1 M es aproximadamente $\Phi_{NaCl} = 0{,}93$; por lo tanto, aunque una solución 0,1 M de NaCl tiene 0,1 x2 = 0,2 moles de iones por litro, éstos se comportan como 0,1 x2 x0,93 = 0,186 moles de partículas independientes por litro, por lo que una solución 0,1 M de NaCl tiene una osmolaridad de 0,186 osmoles por litro.

La osmolaridad es una propiedad coligativa, depende del número total de partículas de soluto independientes disueltas en la solución y no de la naturaleza de dichas partículas. Es decir, una solución de 1 osmol/l de NaCl se comportará igual que una solución de 1 osmol/l de glucosa. Si la solución está compuesta por diferentes solutos (1, 2, …, n), las contribuciones de todos ellos deben ser consideradas para calcular la osmolaridad de la solución:

$$\textbf{Osmolaridad de la solución} = \Sigma\, \Phi.i.C = \Phi_1.i_1.C_1 + \Phi_2.i_2.C_2 + \ldots + \Phi_n.i_n.C_n$$

Cuando se comparan las osmolaridades de dos soluciones, se utilizan los términos **hipoosmolar**, **isoosmolar** e **hiperosmolar** para indicar que una solución tiene una osmolaridad menor, igual o mayor que la otra, respectivamente.

En general, en fisiología celular se utiliza como unidad de osmolaridad los **miliosmoles** por litro (mOsm/L). En los mamíferos la osmolaridad del líquido intracelular es aproximadamente 290-300 mOsm/L.

Flujo osmótico en células animales

Los conceptos anteriores pueden aplicarse a nivel celular para predecir si se generarán flujos netos de agua entre los medios intra y extracelular separados por la membrana citoplasmática. La primera consideración que tenemos que hacer es que las membranas biológicas son permeables al agua, pero también poseen una permeabilidad selectiva para distintos tipos de solutos. Esto tendrá que ser analizado en cada caso, para definir si existe o no un gradiente de solutos que efectivamente genere una diferencia en la concentración de agua para dar lugar a un flujo neto de agua, es decir que sean solutos osmóticamente activos.

Es importante considerar la permeabilidad de la membrana para el soluto, porque si inicialmente el soluto está distribuido asimétricamente a los lados de la membrana citoplasmática, pero permea a través de ella, sufrirá un flujo neto hasta igualar su concentración dentro y fuera de la célula. Por lo tanto, su presencia no será efectiva para generar un gradiente de agua a los lados de la membrana. Es decir, un soluto que atraviesa libremente la membrana no generará un flujo neto de agua a través de la misma cuando el sistema alcance el estado estacionario, y por lo tanto dicho soluto no será osmóticamente activo.

Para **predecir si habrá flujo neto de agua entre el citosol de una célula y el medio extracelular,** en primer lugar se debe analizar si existe un gradiente efectivo de concentración de agua, comparando las osmolaridades de las soluciones intra y extracelular, pero considerando para esto únicamente a aquellos **solutos que no permean a través de la membrana** (como se indicó anteriormente, los solutos que permean no contribuyen al establecimiento de un flujo neto de agua en el estado estacionario).

Como se dijo previamente, las membranas biológicas no son membranas semipermeables sino que poseen una permeabilidad selectiva para los distintos solutos, por lo que el comportamiento osmótico de una célula es complejo y se define el término **tonicidad** para describir el comportamiento de una solución en contacto con células, generalmente considerando como membrana típica a la membrana citoplasmática del glóbulo rojo. Una **solución extracelular será**:

- **Isotónica:** si no existe flujo neto de agua a través de la membrana citoplasmática. En consecuencia, las células sumergidas en esta solución mantienen su volumen constante.
- **Hipertónica:** si existe flujo neto de agua desde el medio intracelular hacia la solución. En consecuencia las células sumergidas en esta solución disminuyen su volumen.
- **Hipotónica:** si existe flujo neto de agua desde la solución extracelular hacia el medio intracelular. En consecuencia, las células sumergidas en esta solución aumentan su volumen y pueden lisarse.

Es decir, la tonicidad de una solución se refiere a la capacidad que tiene esa solución para "atraer" agua desde otra solución de la que está separada por una membrana.

La **tonicidad** de una solución debe ser analizada en función de las propiedades de los solutos presentes, considerando su capacidad para atravesar la membrana. Por ejemplo, si la **osmolaridad "efectiva"** de una solución, es decir, el número de **osmoles de soluto no permeante por litro de solución**, es mayor a la osmolaridad del líquido intracelular (aprox. 300 mOsm/L de solutos no permeantes), entonces la solución extracelular "atraerá" agua desde el interior celular y por lo tanto será **hipertónica** con respecto a esa célula. Si el número de osmoles de soluto no permeantes por litro en la solución extracelular es menor que en el líquido intracelular, la solución extracelular será **hipotónica** respecto a la célula, y el flujo de agua irá desde la solución extracelular hacia el interior celular (el líquido intracelular será hipertónico con respecto a la solución extracelular) (Figura 2.8).[10]

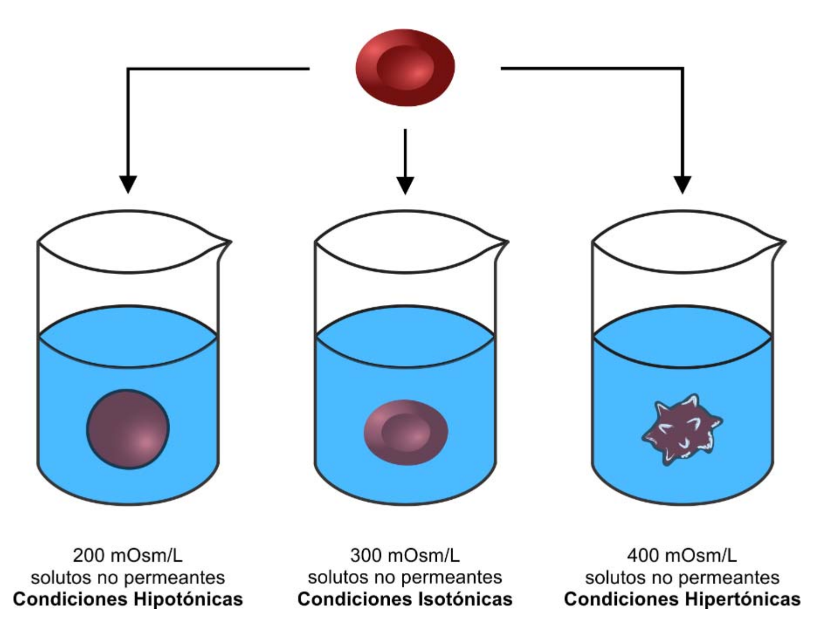


Figura 2.8: Esquema del comportamiento tónico que generan soluciones con distintas concentraciones de solutos no permeantes en contacto con un glóbulo rojo (considerado como una célula tipo).

[10] Comentarios referidos a los fenómenos transitorios de osmosis: la presencia en la solución extracelular de solutos para los cuales las membranas biológicas presentan una permeabilidad relativa puede generar cambios transitorios en la magnitud del gradiente de concentración de agua y por lo tanto fenómenos osmóticos transitorios. Luego, el pasaje de soluto lleva a la disipación del gradiente de soluto y de agua y por lo tanto cesa el flujo neto de agua y el fenómeno osmótico. La velocidad de este proceso dependerá de la permeabilidad de la membrana al soluto con respecto a la del agua.

En muchas células, la permeabilidad al agua está enormemente aumentada gracias a la presencia de **acuaporinas**, proteínas transmembrana que presentan un poro central que permite el pasaje rápido de agua a favor de su gradiente de concentración (es decir, en contra del gradiente de concentración de los solutos no permeantes). Existen varios tipos de acuaporinas diferentes, cuya abundancia relativa varía entre los diferentes tipos celulares. En todas estas acuaporinas la estructura del poro es tal que el agua pasa en forma de una corriente continua de moléculas en fila, con una velocidad de hasta 10^9 moléculas por segundo. El poro presenta alta selectividad para el agua, y no permite el pasaje de iones.

2.3.2. Transporte pasivo de solutos polares no cargados

La ley de Fick, que ya aplicamos para describir flujos de solutos liposolubles a través de la membrana celular, puede aplicarse también para describir flujos de **solutos polares no cargados**. Dado que la permeabilidad de la bicapa lipídica a los solutos polares es muy baja, el flujo de estos solutos por difusión simple es muy pequeño, aún en presencia de grandes asimetrías en la concentración del soluto (Figura 2.9). Para atravesar la bicapa lipídica, las moléculas que están en la solución acuosa deben romper sus enlaces con las moléculas de agua que las rodean y disolverse en las colas no polares de los fosfolípidos. Las moléculas polares grandes (glucosa, aminoácidos) y los iones (H^+, Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{2+}, etc) forman interacciones muy fuertes con el medio acuoso fuera de la bicapa lipídica, por lo que les resulta energéticamente muy desfavorable romper estas interacciones para atravesar la región central hidrofóbica, ya que interaccionan pobremente con las colas no polares de los fosfolípidos. Como consecuencia, las membranas biológicas son prácticamente impermeables a este tipo de moléculas.

El flujo **pasivo** de **solutos polares no cargados** (glucosa, urea, aminoácidos, etc) a través de la membrana es facilitado por la presencia de proteínas transmembrana que transportan dichos solutos **a favor de su gradiente de concentración**. La presencia de proteínas transportadoras para el soluto permite aumentar enormemente el flujo de soluto a través de la membrana para un dado gradiente de concentración de soluto, haciéndolo mucho mayor que el predicho por la ley de Fick para dicho gradiente. La proteína transportadora presenta sitios de afinidad específicos para el soluto transportado, y la interacción entre ambos desencadena cambios de conformación en la proteína que facilitan el pasaje del soluto a través de la membrana celular. Estos sitios de afinidad se encuentran en dominios intra y extracelulares de la proteína y el flujo neto de soluto se generará desde el lugar donde el soluto se encuentra más concentrado (mayor probabilidad de unirse al sitio de afinidad) hacia donde está más diluido (menor probabilidad de unión del soluto a su sitio de afinidad). Este tipo de transporte pasivo se denomina **difusión facilitada**.

El flujo de un soluto específico a través de estos transportadores también es mayor cuanto mayor es el gradiente de concentración de dicho soluto a los lados de la membrana. Sin embargo, al haber un número limitado de tales transportadores en cada célula, a concentraciones

muy altas de soluto puede ocurrir que los transportadores se saturen (todos los transportadores están movilizando moléculas) por lo que incrementos mayores del gradiente de concentración no producen cambios en la magnitud del flujo de soluto (Figura 2.9).

Son ejemplos de este tipo de transportadores, que median flujos de sustancias polares no cargadas por difusión facilitada, los transportadores de glucosa GLUT2 (en hepatocitos, células beta pancreáticas), GLUT3 (en neuronas) y GLUT4 (en adipocitos, músculo esquelético), y el transportador de urea UT (en túbulos renales), entre otros.

En algunos casos, distintos solutos estructuralmente parecidos pueden competir por el uso de un mismo transportador.

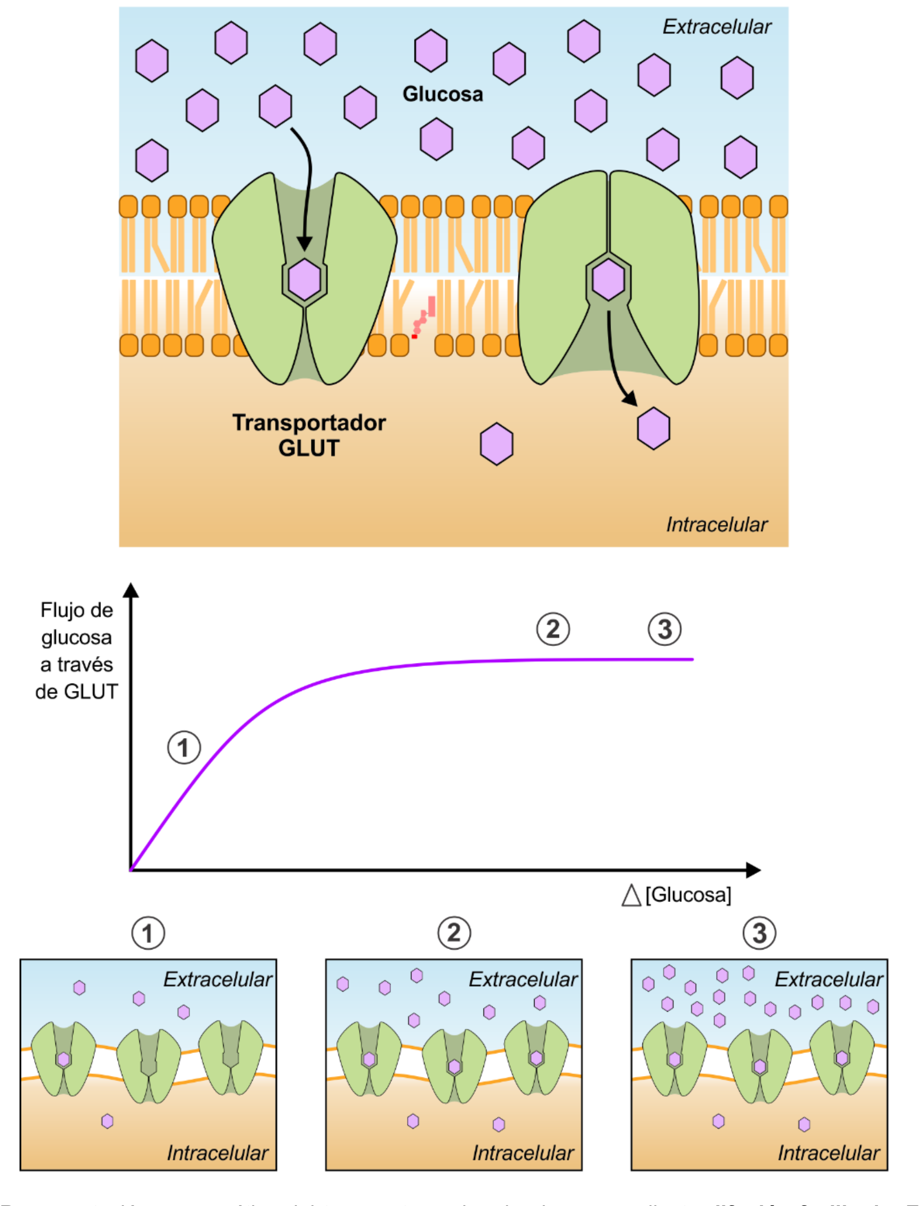


Figura 2.9: Representación esquemática del transporte pasivo de glucosa mediante **difusión facilitada**. El soluto se mueve, a favor de su gradiente de concentración (región 1 de la curva), a través de proteínas de membrana (transportadores específicos afines por la molécula de glucosa). Como el número de transportadores en cada célula es limitado, a concentraciones muy altas de glucosa los transportadores se saturan (región 2 de la curva, todos los transportadores están movilizando moléculas) por lo que incrementos mayores del gradiente de concentración de glucosa no producen cambios en la magnitud del flujo de soluto (región 3 de la curva).

2.4. Transporte pasivo de solutos cargados

Cuando los solutos que se transportan a través de la membrana **tienen carga**, el **transporte pasivo** (espontáneo) también ocurre en el sentido en el cual disminuye el potencial electroquímico (μ) del soluto transportado, sólo que en este caso μ dependerá del gradiente de concentración y del potencial de membrana (Vm), tal como se comentó en la sección 2.1:

$$\Delta\mu_{(i\rightarrow e)} = R.T.\ln(c_e/c_i) - z.F.V_m \qquad (2)$$

El **transporte pasivo de iones inorgánicos** puede realizarse a través de proteínas transmembrana llamadas **canales iónicos**. Estos canales tienen un poro acuoso central por el que pasan los iones, y alternan de manera **estocástica** (al azar) entre al menos un estado conformacional cerrado (que no permite el pasaje de iones) y un estado conformacional abierto (que sí permite el pasaje de iones)**.** Si bien el pasaje del estado abierto al cerrado y viceversa ocurre de manera totalmente estocástica, el tiempo que el canal pasa en promedio en cada uno de estos estados puede ser modificado por la acción de diferentes señales sobre la proteína que forma parte del canal: sustancias químicas (p. ej. neurotransmisores u hormonas que se unan a la proteína canal del lado extracelular o del lado intracelular), modificaciones covalentes (p. ej. fosforilación de un dominio intracelular) o cambios físicos (en la temperatura, en el grado de estiramiento mecánico de la membrana o en el potencial eléctrico de la membrana).

Los aminoácidos que están en contacto con el poro acuoso del canal generan interacciones no covalentes con los iones que lo atraviesan, determinando la selectividad iónica del canal. Esta propiedad de selectividad del canal puede ser altamente restrictiva en algunos casos (canales que permiten el pasaje sólo de Na^+ o sólo de K^+ o sólo de Ca^{2+} o sólo de Cl^-) o menos restrictiva (canales catiónicos inespecíficos que dejan pasar con la misma facilidad a los cationes Na^+, K^+ y Ca^{2+}). En las membranas celulares hay muchos canales iónicos de distintos tipos. Coexisten canales selectivos de K^+, de Ca^{2+}, de Na^+, de Cl^- y canales menos selectivos (catiónicos o aniónicos) dependiendo del tipo celular y de su función.

Cuando el potencial electroquímico del soluto cargado es el mismo en ambos compartimentos, el pasaje de soluto desde adentro hacia afuera de la célula tiene Δμ = 0 y el **soluto está en equilibrio**. En esta situación, el flujo del soluto cargado debido a su gradiente de concentración es balanceado por un flujo de soluto en el sentido opuesto debido a la diferencia de potencial eléctrico de la membrana, de manera tal que no habrá movimiento pasivo neto de soluto en ningún sentido.

El valor del potencial de membrana en el cual un ion se encuentra en equilibrio puede obtenerse partir de la ecuación (2) haciendo Δμ = 0, y queda expresado como:

$$V_m = (R.T/z.F) . \ln(c_e/c_i)$$

A este valor de potencial se le llama potencial de equilibrio de Nernst (E_{eq}) para ese ion.

Como se verá en el capítulo 3, el movimiento de iones a través de los canales iónicos genera cambios en el potencial de membrana de la célula. Cuando el potencial de membrana (V_m) es diferente al potencial de equilibrio del ion (E_{eq}), el ion no estará en equilibrio y tenderá a moverse espontáneamente a través de la membrana en el sentido en el cual hace que el potencial de membrana se acerque a su propio potencial de equilibrio. A la diferencia entre el potencial de la membrana y el potencial de equilibrio de Nernst para un ion se le llama **Fuerza impulsora (FI)** para el movimiento neto de ese ion.

Estos conceptos se utilizarán al analizar la generación del potencial de membrana celular y sus variaciones, en el capítulo 3.

2.5. Transporte activo

En la sección 2.1 explicamos que el transporte de un determinado soluto a través de la membrana citoplasmática es termodinámicamente favorable, y por lo tanto puede ocurrir espontáneamente de manera pasiva, sólo cuando ese proceso de transporte tiene un $\Delta G < 0$ asociado (es decir, si el transporte se realiza a favor del gradiente de energía libre). En esta situación, la energía potencial almacenada como diferencia de potencial electroquímico del soluto es la que impulsa el movimiento pasivo del soluto desde un lado de la membrana hasta el otro.

Por otra parte, si el transporte del soluto a través de la membrana citoplasmática en determinado sentido es un proceso con un cambio de energía libre ΔG_1 mayor que cero, no podrá ocurrir de manera espontánea, por lo que el soluto no podrá transportarse en ese sentido de manera pasiva. Esto no quiere decir que el proceso no pueda llevarse a cabo de ninguna manera sino que, para que ocurra ese transporte del soluto, se requiere otro tipo de energía diferente de la del gradiente de potencial electroquímico de dicho soluto. Es decir, este proceso no espontáneo con un cambio de energía libre $\Delta G_1 > 0$ se puede acoplar a otro proceso que sí sea espontáneo y con un cambio de energía libre $\Delta G_2 < 0$, de manera tal que el proceso global tenga un cambio de energía libre total $\Delta G_{total} = (\Delta G_1 + \Delta G_2) < 0$. Esa energía que debe agregarse es energía metabólica, proveniente de la hidrólisis de ATP.

Entonces, el transporte de un soluto en contra de su gradiente de potencial electroquímico, sin importar si el soluto es cargado o no, requiere un **gasto de energía metabólica** (hidrólisis de ATP), ya que el transporte en este sentido no ocurrirá en forma espontánea. Este tipo de transporte que requiere energía metabólica para llevarse a cabo se denomina **transporte activo**.

Si la energía metabólica se usa en forma directa (la misma proteína que transporta al soluto es la que hidroliza el ATP) se denomina transporte activo primario. La proteína transportadora involucrada tiene actividad ATPasa, y muchas veces se la denomina **bomba**. Ejemplos: Ca^{2+}-ATPasas, K^+/H^+ ATPasa, Na^+/K^+ ATPasa, etc.

Los modelos que explican el funcionamiento de estos transportadores activos primarios consideran cambios conformacionales de las proteínas transportadoras asociados a procesos de fosforilación dependiente de ATP y a cambios de los sitios de unión específicos del soluto que se transporta, tanto en la afinidad por dicho soluto como en la orientación de los mismos (hacia adentro o hacia afuera de la célula). Imaginemos que es una proteína que transporta activamente el soluto X desde adentro de la célula hacia afuera, en contra del gradiente de potencial electroquímico de X. La proteína tiene un estado conformacional en el cual tiene un sitio de alta afinidad por X y un sitio con alta afinidad por el ATP, ambos del lado intracelular. Cuando la proteína une X y ATP en el dominio intracelular, hidroliza al ATP, liberando el ADP y fosforilando un aminoácido de la proteína. La fosforilación le causa a la proteína un cambio a otro estado conformacional en el cual el sitio de unión de X queda mirando hacia el lado extracelular, pero ahora con muy baja afinidad por X, por lo que X se disocia de la proteína y la proteína se desfosforila. La desfosforilación hace que la proteína vuelva al estado conformacional inicial, con alta afinidad por X y por ATP en el lado intracelular, y el ciclo se repite mientras haya ATP disponible (Figura 2.10). En el proceso global de este ejemplo una molécula de X pasó desde el líquido intracelular hasta el líquido extracelular y una molécula de ATP se transformó en ADP y fosfato libre. El requerimiento energético para que este mecanismo de transporte sea posible es que el cambio de energía libre asociado a la hidrólisis de ATP (de signo negativo) sea mayor en módulo que el cambio de energía libre asociado a la salida de X de la célula (de signo positivo), o lo que es lo mismo, que el cambio de energía libre del proceso global sea negativo.

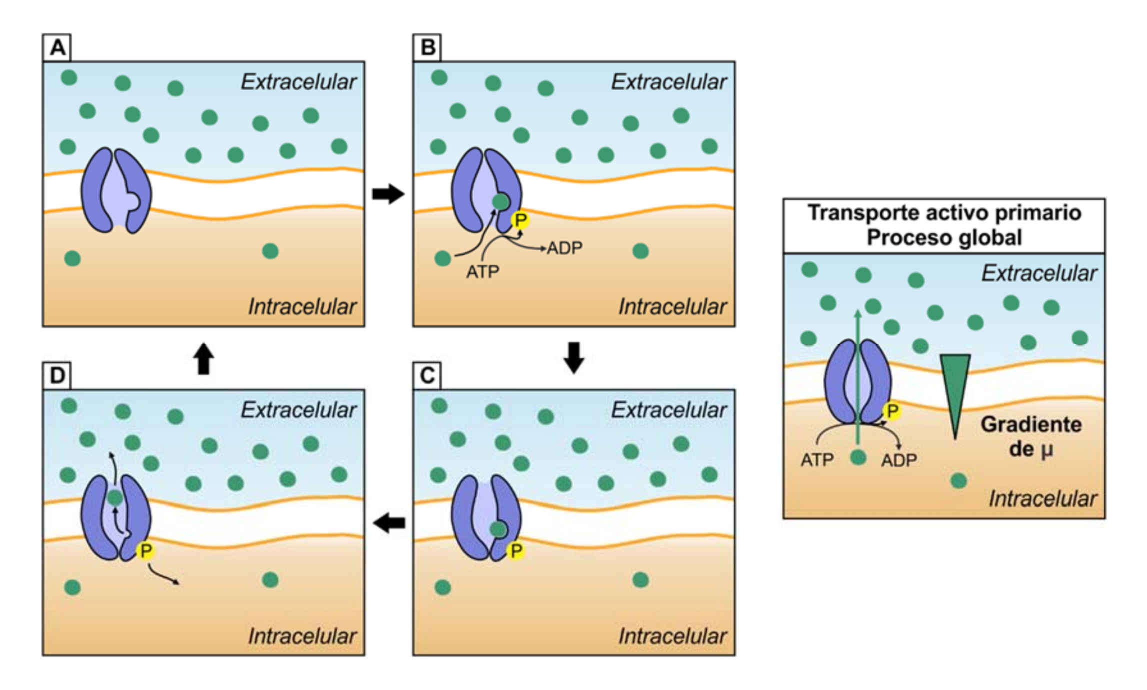


Figura 2.10: Representación esquemática del modelo que explica el funcionamiento de un transportador activo primario (transporte en contra de gradiente de potencial electroquímico): las proteínas transportadoras cambian su estado conformacional y su afinidad por el soluto en función de la unión específica del soluto que transporta y de procesos de fosforilación dependientes de ATP.

Si el uso de energía metabólica se realiza *en forma indirecta*, es decir, cuando la proteína que realiza el transporte no es la proteína que hidroliza el ATP, se denomina **transporte activo secundario**. En este caso la energía potencial de un soluto A que, utilizando una proteína de membrana, se mueve espontáneamente a favor de su gradiente de potencial electroquímico, sirve para transportar otro soluto B en contra de su gradiente de potencial electroquímico. Este transporte requiere que previamente un transportador activo primario haya generado el gradiente de potencial electroquímico del soluto A.

Ejemplos de transporte activo secundario: Na^+/Ca^{2+}, Na^+/aminoácido; Na^+/glucosa; Na^+/glutamato, Na^+/serotonina, Na^+/I^- etc.

Para que el transporte activo secundario pueda llevarse a cabo, es necesario que el cambio de energía libre total (es decir, el asociado al soluto que se mueve espontáneamente más el asociado al soluto que se transporta activamente) sea negativo. El acoplamiento entre ambos procesos es realizado por una proteína transportadora, que posee sitios de afinidad para ambos solutos que están expuestos tanto al lado intracelular como al lado extracelular. La unión de los solutos a sus sitios de afinidad específicos provoca cambios de conformación de la proteína, que exponen los sitios de unión hacia el otro lado de la membrana y sufren cambios de afinidad que favorecen la disociación de los solutos del sitio de unión en la proteína, de manera similar al modelo explicado para el transporte activo primario (Figura 2.11).

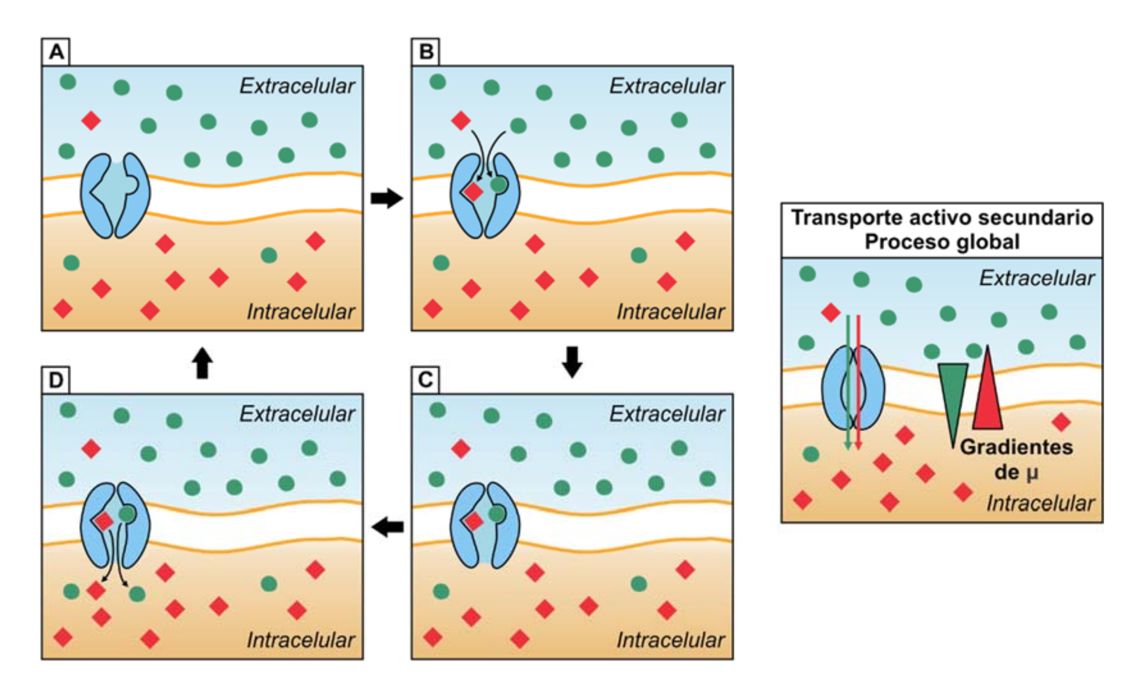


Figura 2.11: Representación esquemática del modelo que explica el funcionamiento de un transportador activo secundario (transporte de un soluto a favor del gradiente y otro en contra del gradiente de potencial electroquímico). El movimiento de soluto es realizado por una proteína transportadora, que posee sitios de afinidad para ambos solutos que están expuestos tanto al lado intracelular como al lado extracelular. La unión de los solutos a sus sitios de afinidad específicos provoca cambios de conformación de la proteína, que exponen los sitios de unión hacia el otro lado de la membrana y sufren cambios de afinidad que favorecen la disociación de los solutos del sitio de unión en la proteína.

Los transportadores activos secundarios pueden generar flujos de solutos diferentes en **el mismo sentido**, por ejemplo, desde afuera hacia adentro de la célula y se denominan

*cotransportadores o simportadores (*Ej.: $Cl^-/Na^+/K^+$ y Na^+/HCO_3^-) **o en sentidos opuestos**, y se denominan *contratransportadores o antiportadores o intercambiadores* (Ej.: Na^+/H^+, Cl^-/HCO_3^- y Na^+/Ca^{2+}).

Para los dos tipos de transportadores activos (primarios y secundarios), si en el transporte no hay flujo neto de cargas el mecanismo es **electroneutro**. En cambio, si existe flujo neto de cargas el mecanismo es **electrogénico** (en este caso el funcionamiento del transportador dependerá del potencial de membrana celular).

<u>Ejemplos de Transportes activos primarios</u>

Bomba de Na^+/K^+: intercambia **Na^+** y **K^+**, ambos en contra de su gradiente electroquímico. Genera los gradientes de **Na^+** y **K^+** que existen a ambos lados de la membrana en todas las células. Estequiometría 3:2.

Bomba de H^+/K^+: intercambia **H^+** y **K^+**, ambos en contra de su gradiente electroquímico. Importante en la secreción de ácido por las células parietales del estómago.

Bomba de Ca^{2+}: proteína que utiliza ATP para mover Ca^{2+} en contra del gradiente electroquímico al interior de las organelas o hacia el exterior celular. Importante en la relajación del músculo.

Bomba V: transporta H^+ desde el citosol a las organelas intracelulares.

Transportadores ABC: extruyen cationes o drogas desde el interior celular.

<u>Ejemplos de Transportes activos secundarios</u>

a- Cotransportadores dependientes del gradiente electroquímico de Na^+:

Na^+/glucosa: estequiometrías conocidas 1:1 y 2:1. Utilizado en absorción de glucosa en el intestino y en el túbulo renal.

Na^+/aminoácido: estequiometría conocida 1:1. Utilizado en absorción de aminoácidos en el intestino y en el túbulo renal.

Na^+/HCO_3^-: participa en la regulación del pH intracelular. Estequiometrías conocidas 1:1 (electroneutro) y también 1:2 y 1:3 (electrogénicos).

$Na^+/K^+/Cl^-$: estequiometría conocida 1:1:2 (electroneutro), acumula K^+ y Cl^- intracelular, hay 3 variantes, son sensibles a los diuréticos furosemida y bumetanide.

Na^+/Cl^- : estequiometría 1:1 (electroneutro); sensible al diurético tiazida.

b- Cotransportadores independientes del gradiente de Na^+: K^+/Cl^-, H^+/Oligopéptidos, entre otros

c- Cotransportadores de neurotransmisores:

1. Dependientes de Na^+ y de Cl^-:

• (GAT) transportador de ácido gama-amino butírico (GABA), neurotransmisor inhibitorio

• (PROT) transportador de prolina, (GLYT) transportador de glicina, (SERT) transportador de serotonina (5-HT), (NET) transportador de noradrenalina (NE), (DAT) transportador de dopamina

2. Transportador de glutamato: acoplado al ingreso de 3 iones Na^+ y un H^+ y la salida de un ion K^+

3. Transportadores de péptidos, en algunos tipos celulares, acoplados al transporte de H^+

d- Contratransportadores dependientes del gradiente electroquímico de Na^+:

Na^+/Ca^{2+}: estequiometrías: 3:1, electrogénico (la más común) y 3:2. Existen 3 isoformas para este intercambiador: NCX1 (en músculo cardíaco, músculo liso y riñón); NCX2 y NCX3 (en cerebro y músculo esquelético). Muy importante en células contráctiles, involucrado en la contracción (modo reverso, entra calcio) y la relajación (modo directo, extruye calcio).

Na^+/H^+: estequiometría 1:1, su activación aumenta el pH intracelular.

$Na^+/Cl^-/HCO_3^-$: estequiometría 1:1:2 (electroneutro), aumenta el pH intracelular.

e- Contratransportadores independientes del gradiente de Na^+:

Cl^-/HCO_3^- : estequiometría 1:1. Produce un eflujo de HCO_3^- importante en la regulación del pH intracelular y un influjo de Cl^- que participa en la regulación del volumen celular.

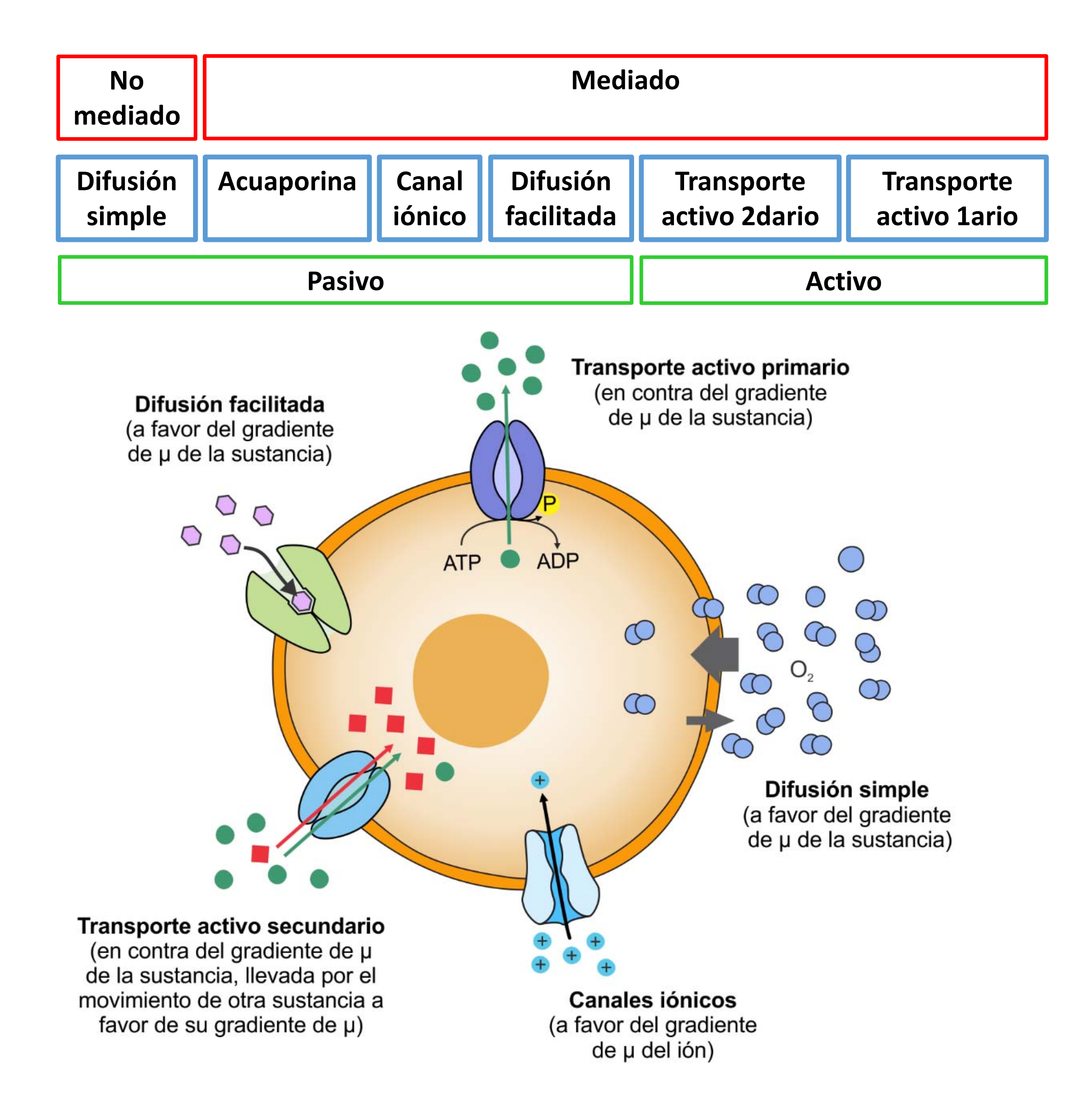


Figura 2.12: Esquema de los distintos tipos de transporte de solutos (mediados y no mediados) a nivel celular

2.6 Regulación de los mecanismos de transporte

Los organismos tienen diferentes maneras de regular el transporte de sustancias a través de la membrana citoplasmática:

- a través de **cambios en la actividad de los transportadores**: las proteínas transportadoras podrían sufrir modificaciones covalentes (fosforilación, acilación, glucosilación) y/o unirse transitoriamente a distintos ligandos intracelulares (AMPc, GMPc, Ca^{2+}) o extracelulares (hormonas, neurotransmisores, etc) que induzcan un cambio en su conformación, de manera tal que se modifique su actividad.
- a través de **cambios en el número de transportadores** presentes en la membrana celular: para las sustancias de naturaleza hidrofílica, la presencia de transportadores en la membrana es fundamental para lograr un flujo de materia compatible con los requerimientos celulares. El número de transportadores puede variar en respuesta a la presencia de ciertas hormonas, por ej: en el túbulo renal el número de aquaporinas aumenta en presencia de la hormona antidiurética (ADH) y el número de Na^+/K^+ ATPasas aumenta en presencia de aldosterona; en el músculo esquelético el número de transportadores GLUT4 aumenta en presencia de insulina, etc.
- a través de **cambios en la estructura química del soluto** de interés: la molécula sufre un cambio que hace que disminuya su permeabilidad a través de la membrana (por ej: la glucosa que ingresa a la célula por transportadores GLUT es fosforilada intracelularmente, lo que impide que vuelva a salir por dichos transportadores; en el hígado las sustancias de desecho de naturaleza lipofílica son unidas covalentemente a grupos polares, lo que las vuelve más hidrofílicas e impide que puedan atravesar libremente la membrana de las células, facilitando su eliminación mediante transportadores específicos que las vuelcan a la bilis).

2.7 Transporte mediante vesículas

Las células pueden transportar sustancias entre el medio intracelular y el medio extracelular mediante la utilización de vesículas. Para esto, una porción de la membrana rodea completamente el material a transportar y se cierra alrededor de él formando una vesícula. Cuando esta vesícula se fusiona con otro sistema de membranas, se liberan los materiales atrapados en ella. El transporte de material en vesículas hacia el interior celular se denomina **endocitosis**, y el transporte de material en vesículas hacia el exterior celular se denomina **exocitosis**.

2.7.1 Endocitosis

Mediante la endocitosis, las células internalizan materiales desde el medio extracelular utilizando una vesícula formada a partir de la membrana plasmática. Este mecanismo es útil para internalizar materiales con un tamaño demasiado grande para ser transportados a través de la membrana mediante difusión simple o utilizando transportadores proteicos. Los procesos de endocitosis se clasifican en tres grandes grupos: endocitosis mediada por receptor, pinocitosis y fagocitosis. Estos procesos difieren en la naturaleza del material transportado, el grado de especificidad y los tipos celulares que las realizan.

a- Endocitosis mediada por receptor

Es un proceso altamente selectivo, en el cual la sustancia que se va a transportar debe primero unirse a un receptor proteico localizado en una región específica en la superficie de la célula, y luego de esta unión se forma la vesícula que internaliza la sustancia en la célula.

Los dos tipos principales de estructura involucrada en la formación de la vesícula endocítica son los huecos de membrana recubiertos con clatrina y las caveolas.

En el caso de las vesículas recubiertas con clatrina, hay regiones bien delimitadas de la membrana celular que están recubiertas en su lado citoplasmático por la proteína clatrina, y en el lado extracelular tienen anclados un gran número de receptores para las distintas sustancias a transportar. Cuando los ligandos presentes en el medio extracelular se unen a sus receptores específicos, la membrana se invagina y se forma un bolsillo que contiene los ligandos unidos a sus receptores; luego el bolsillo se cierra y se forma una vesícula recubierta con clatrina que se separa de la superficie celular (Figura 2.13) y se fusiona con otras vesículas intracelulares como los lisosomas. Este mecanismo está presente en todos los tipos celulares, y es utilizado para internalizar lipoproteínas de baja densidad (ricas en colesterol), transferrina, vitamina B12, hormonas y anticuerpos, entre otras sustancias.

Las caveolas son depresiones en forma de cueva que se observan en regiones de la membrana celular especialmente ricas en colesterol y glicolípidos, y que presentan la proteína caveolina. La formación de la vesícula también es desencadenada por la unión de diferentes ligandos a sus receptores específicos en la caveola. Son muy abundantes en células de músculo liso, células endoteliales, fibroblastos y adipocitos.

b- Fagocitosis

Este proceso es llevado a cabo por un número limitado de tipos celulares involucrados en la defensa del organismo y en la reparación de tejidos (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas). Se utiliza para la internalización de material particulado de gran tamaño (bacterias, virus, restos celulares, fragmentos de células apoptóticas, partículas de polvo, etc). Cuando la célula fagocítica encuentra el material particulado, extiende prolongaciones (seudópodos) que rodean a la partícula y la atrapan formando una gran vesícula que luego es internalizada en la célula (Figura 2.13).

c- Pinocitosis

Es un proceso no selectivo en el cual la membrana sufre una invaginación que atrapa una porción del líquido extracelular y luego se cierra formando una vesícula pequeña que se separa de la superficie (Figura 2.13).

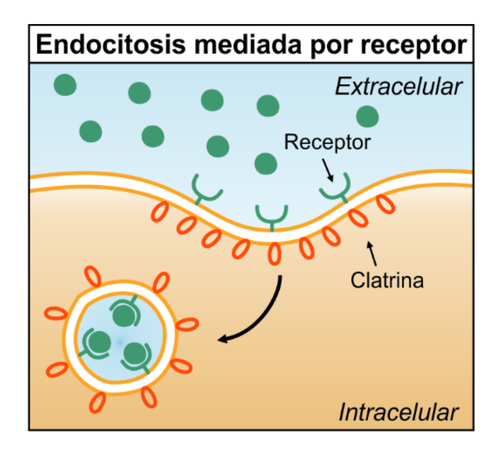
En todos los casos, luego de la endocitosis la vesícula endocítica o endosoma se fusiona con otra vesícula intracelular, que gracias a su bajo pH produce la separación de los ligandos de sus receptores. La membrana con los receptores puede ser reciclada hacia la superficie de la célula, y el endosoma con el material internalizado se fusiona con lisosomas. Los lisosomas en su interior tienen pH ácido (menor a pH 5) y poseen una gran variedad de enzimas líticas que degradan los diferentes componentes del material internalizado contenido en la vesícula, transformándolo en monosacáridos, aminoácidos y lípidos simples, que son transportados al citosol a través de la membrana del lisosoma.

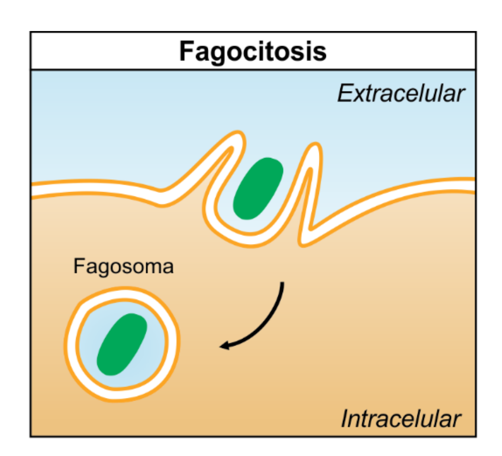
2.7.2 Exocitosis

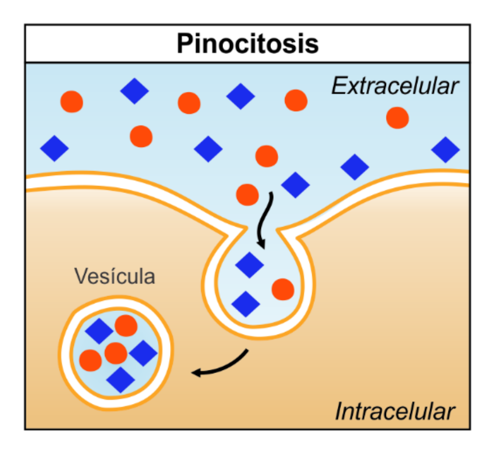
Es el transporte de material contenido en vesículas hacia el exterior celular. Se utiliza como mecanismo de secreción de proteínas, que se exportan en vesículas desde el aparato de Golgi y se almacenan en dichas vesículas en el interior de la célula secretora hasta que ésta recibe una señal para la secreción. Cuando llega dicha señal, la vesícula es transportada hacia las cercanías de la membrana plasmática, la membrana de la vesícula se fusiona con la membrana plasmática y se libera el contenido de la vesícula hacia el líquido extracelular. Este mecanismo es utilizado por células endócrinas para secretar hormonas de naturaleza proteica y por células de glándulas exócrinas para secretar enzimas. También las neuronas utilizan este mecanismo para liberar neurotransmisores (de naturaleza proteica y no proteica). (Figura 2.13)

La fusión de las membranas de las vesículas con la membrana celular requiere que ambas membranas se acerquen y que se produzca la interacción de ciertas proteínas que recubren la vesícula con otras proteínas presentes en la cara citoplasmática de la membrana celular. Esta interacción entre las proteínas, a su vez, requiere generalmente un incremento de los niveles de Ca^{2+} en el citoplasma en las inmediaciones de la vesícula. Numerosos estímulos que desencadenan la secreción de material almacenado en vesículas en distintos tipos celulares tienen como paso final común, previo a la secreción, el aumento de la concentración de Ca^{2+} en la célula.

En células que actúan como límite entre dos compartimentos corporales, como las células endoteliales, puede ocurrir el proceso de **transcitosis**, el cual involucra la endocitosis de material en un lado de la célula, el movimiento de las vesículas con material a través de la célula y la exocitosis del material del otro lado de la célula.







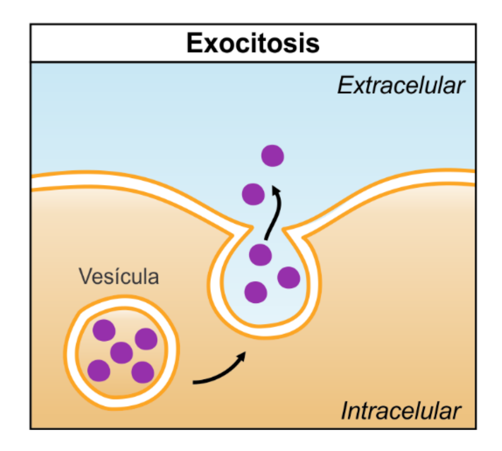


Figura 2.13: Esquema de los distintos tipos de transporte mediante vesículas a nivel celular

CAPÍTULO 3
Potencial de membrana celular

Verónica Milesi, Melisa Moncada

3.1 Potencial de membrana de reposo

El potencial de membrana (V_m) es la diferencia de potencial eléctrico que existe entre ambos lados de la membrana citoplasmática en todas las células vivas. En la mayoría de las células, el V_m presenta un valor negativo en el interior con respecto al exterior, que se mantiene constante cuando la célula está en estado de reposo, y puede cambiar ante la llegada de determinadas señales.

La presencia de una diferencia de potencial eléctrico entre ambos lados de la membrana celular indica que en la misma existe una separación de cargas en el espesor de la membrana. En las siguientes secciones vamos a analizar dónde y cómo se produce esa separación de cargas que genera el potencial de membrana.

En primer lugar, antes de ocuparnos de la célula, vamos a analizar algunas situaciones más simples que serán de utilidad para entender el fenómeno. Como sistema modelo consideraremos un liposoma (vesícula esférica delimitada por una membrana compuesta por una doble capa de fosfolípidos) en el cual el **medio interno** es una solución acuosa de NaCl 10 mM + KCl 135 mM, y analizaremos la diferencia de potencial eléctrico entre ambas caras de la membrana en diferentes situaciones:

Situación 1: se coloca el liposoma en un **medio externo** constituido por una solución acuosa de NaCl 140 mM + KCl 5 mM (Figura 3.1).

Observamos que entre el interior y el exterior del liposoma

- existe un gradiente de concentración para el ion K^+
- existe un gradiente de concentración para el ion Na^+
- no existe gradiente de concentración para el ion Cl^-

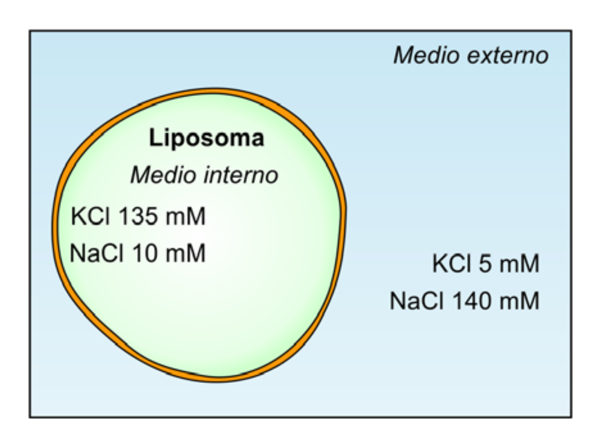


Figura 3.1: representación esquemática de una vesícula esférica (liposoma), delimitada por una membrana compuesta por una doble capa de fosfolípidos que separa dos medios acuosos de composición iónica diferente.

Todas las cargas adentro y afuera del liposoma están balanceadas, se respeta el principio de electroneutralidad de las soluciones en los dos compartimentos, no hay separación de cargas a los lados de la membrana del liposoma que forma el límite entre los dos compartimentos. En esta situación, el valor de potencial de membrana del liposoma es 0 milivoltios[11] (mV), su membrana no presenta polarización.

¿Qué ocurrirá con la diferencia de potencial eléctrico a los lados de la membrana del liposoma si agregamos a la membrana una vía de pasaje para algún ion?

Situación 2: al liposoma, sumergido en el mismo medio externo que en la situación anterior, le insertamos en su membrana una proteína canal iónico que sólo permita el pasaje de iones K^+ (lo que denominamos canal iónico selectivo al ion K^+) (Figura 3.2A).

En este caso, asumiendo que el canal iónico está en su conformación de canal abierto (deja pasar a los iones K^+), el K^+ comienza a moverse desde el interior del liposoma, donde se encuentra más concentrado, hacia el exterior, donde está más diluido, y se genera un flujo pasivo neto de K^+ a favor de su gradiente de concentración. Por otro lado, el ion Cl^- y el ion Na^+ no se mueven porque no tienen vías de pasaje a través de la membrana del liposoma (Figura 3.2B).

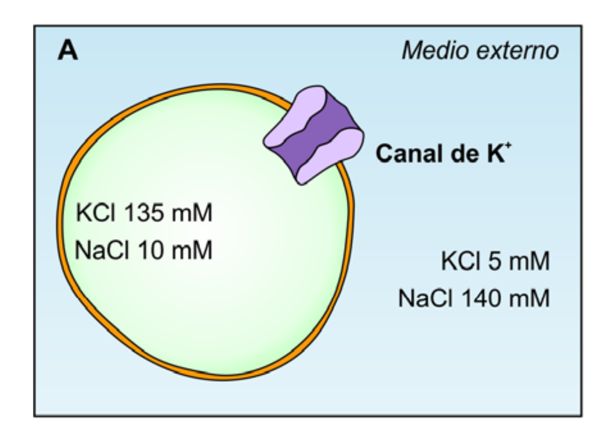
El ion Cl^-, que balanceaba la carga del ion K^+, se empieza a acumular en la cara intracelular de la membrana del liposoma, separándose del K^+ que se está moviendo a través de la membrana. De esta manera, se genera una densidad de carga negativa en la cara interna de la membrana del liposoma. Este fenómeno hace que algunos iones K^+ comiencen a moverse desde el exterior hacia el interior, atraídos por esta densidad de carga negativa que se está formando (es decir, se genera una diferencia de potencial eléctrico que atrae a los iones K^+ hacia el interior del liposoma) (Figura 3.2C).

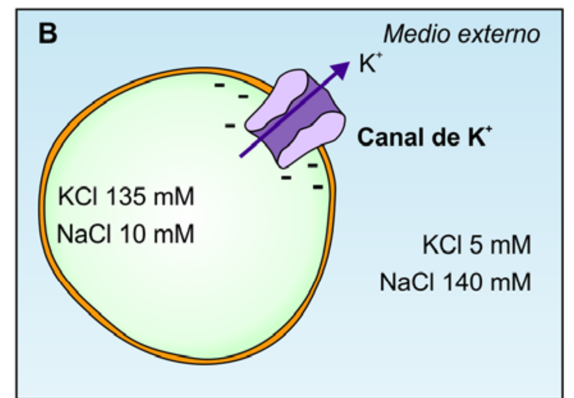
A medida que los iones K^+, que salen del liposoma a favor de su gradiente de concentración, se alejan más de los iones Cl^- que quedan dentro del liposoma, mayor es la separación de cargas que se genera y mayor es la diferencia de potencial entre ambas caras de la membra-

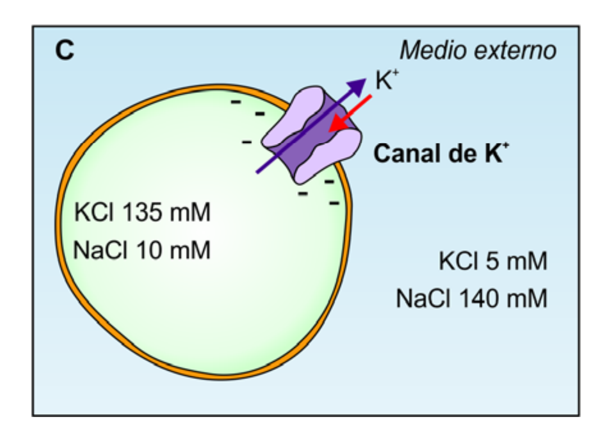
[11] En este libro utilizaremos como unidad de medida de potencial eléctrico al **milivoltio (mV)**, que es igual a 10^{-3} voltios.

na. Esto genera una mayor atracción de iones K^+ hacia el interior del liposoma, que tiene densidad de carga negativa. Esta situación progresa hasta que la “fuerza química”, que favorece la salida de iones K^+ siguiendo su gradiente de concentración, se iguala a la “fuerza eléctrica” que favorece la entrada de iones K^+ al liposoma siguiendo el gradiente eléctrico.

Como vimos en el capítulo 2, donde se describió el transporte pasivo de solutos cargados a través de canales iónicos, cuando el potencial electroquímico (μ) del soluto cargado es el mismo en dos compartimentos separados por una membrana que permite el pasaje selectivo del soluto, el Δμ es igual a 0 y el **soluto está en equilibrio electroquímico**. En esta situación, el flujo del soluto cargado (el K^+) debido a su gradiente de concentración es balanceado por un flujo del mismo soluto cargado en el sentido opuesto, debido a la diferencia de potencial eléctrico que se está generando, de manera tal que no habrá movimiento pasivo neto de soluto en ningún sentido (Figura 3.2D).







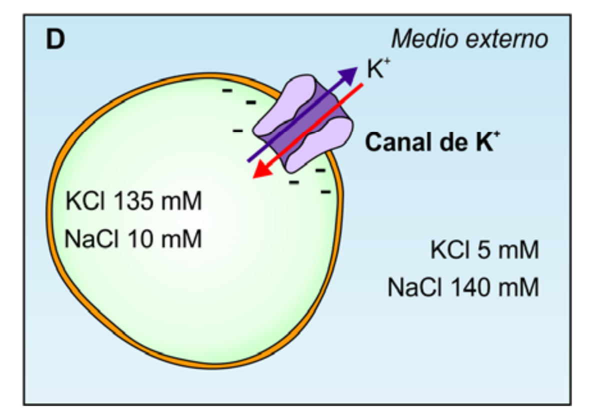


Figura 3.2: (A) Representación esquemática de un liposoma con la inserción de un canal iónico selectivo al ion K^+ en su membrana lipídica. (B) Flujo de K^+ que se produce (flecha violeta), a favor de su gradiente de concentración, a través del canal de K^+ presente en su membrana lipídica. Se genera una densidad de carga negativa en el la cara interna del liposoma. (C) Flujo de K^+ (desde adentro hacia afuera del liposoma) que se produce a favor de gradiente de concentración y flujo de K^+ (desde afuera hacia adentro del liposoma – flecha roja) producido por el gradiente eléctrico que se está generando. (D) El flujo de K^+ (desde adentro hacia afuera del liposoma) que se produce a favor del gradiente de concentración **es igual** al flujo de K^+ (desde afuera hacia adentro del liposoma) producido por el gradiente eléctrico que se está generando, es decir, el ion K^+ se encuentra en equilibrio entre los medios acuosos de adentro y de afuera del liposoma.

Como se mencionó en el capítulo 2, el cambio de potencial electroquímico para la salida de un soluto cargado del liposoma estará dado por: $\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e / C_i) - z.F.\ V_m$

El valor del potencial eléctrico de membrana en el cual se logra la situación de equilibrio electroquímico puede obtenerse a partir de la ecuación anterior, haciendo $\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = 0$:

$$V_m = (R.T/z.F) . \ln(C_e/C_i)$$

A este valor de diferencia de potencial eléctrico entre dos puntos para el cual un ion se encuentra en equilibrio electroquímico se lo denomina **potencial de equilibrio electroquímico de Nernst (E_{eq})** para ese ion. Como se puede observar, la diferencia de concentración es el único factor variable de la ecuación, por lo tanto el potencial de equilibrio de Nernst (E_{eq}) es una forma de expresar el gradiente de concentración de un ion en valores de potencial eléctrico.

En la situación planteada en este caso, debido a la presencia de un canal selectivo al K^+ y a la diferencia que existe entre las concentraciones de K^+ en el interior y en el exterior del liposoma, la membrana del liposoma se polariza y se genera una diferencia de potencial $V_m = E_{eq}^K$. Para las concentraciones definidas más arriba, y considerando T = 310 K, se alcanzará un valor de $V_m = E_{eq}^K$ = - 88 mV.

Entonces, en este caso simple del liposoma que estamos analizando, para que se genere una diferencia de potencial eléctrico a los lados de la membrana del liposoma es indispensable que al menos se cumplan estas condiciones:

- Que haya una diferencia de concentración de un ion entre ambos lados de la membrana.
- Que exista una vía de pasaje selectiva para ese ion.
- Que la membrana sea impermeable al contraion (en este caso el Cl^-).

¿Qué hubiese ocurrido si, en el mismo liposoma, en lugar de insertar un canal iónico selectivo al ion K^+, hubiésemos insertado un canal iónico selectivo al ion Na^+? ¿Cuál hubiera sido el valor del potencial de membrana (V_m) del liposoma?

El V_m habría sido igual al E_{eq} del ion que puede permear a través de la membrana del liposoma, en este caso el Na^+. Según las condiciones fijadas, el V_m sería igual a +69 mV.

¿Qué hubiese ocurrido si, en el mismo liposoma, en lugar de insertar un canal iónico selectivo al ión K^+, hubiésemos insertado un canal iónico selectivo al ión Cl^-? ¿Cuál hubiese sido el valor del potencial de membrana del liposoma?

Nuevamente, V_m será igual al E_{eq} del ion que puede permear a través de la membrana del liposoma, en este caso el Cl^-. Según las condiciones fijadas, el V_m sería igual a 0 mV.

Es decir que, en cada una de las situaciones que analizamos, a través de los canales de la membrana se generarán flujos iónicos iguales y en sentido opuesto, y el liposoma va a adquirir un potencial de membrana (V_m) cuyo valor será igual al del potencial de equilibrio electroquímico que establece la ecuación de Nernst para el ion permeante en cada caso, y por lo tanto será función del gradiente de concentración de dicho ion.

Ahora analicemos ¿qué ocurrirá en el liposoma si en la membrana ponemos en forma simultánea dos canales iónicos diferentes (selectivos para iones diferentes)?

Situación 3: en el liposoma se colocan un canal selectivo al K^+ y un canal selectivo al Na^+, como se esquematiza en la Figura 3.3.

Teniendo en cuenta las concentraciones que definimos adentro y afuera del liposoma para cada uno de los iones, el K^+ va a pasar por su canal en forma pasiva desde el interior hacia el exterior, guiado por su gradiente de concentración, tendiendo a llevar al V_m del liposoma hacia el valor de su E_{eq}^K (tal como vimos en los párrafos anteriores). Por otro lado, el Na^+ pasará por su canal desde el exterior hacia el interior, también guiado por su gradiente de concentración, tendiendo a llevar al V_m del liposoma hacia el valor de su E_{eq}^{Na}.

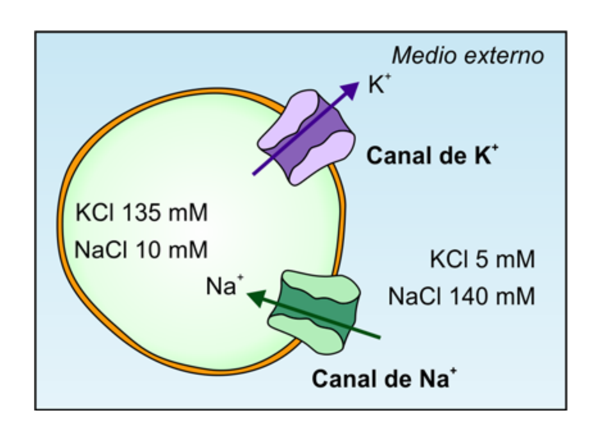


Figura 3.3: Representación esquemática de los flujos de K^+ y de Na^+ que se generan entre el interior de un liposoma y el medio exterior cuando existe un gradiente de concentración y una vía de pasaje selectiva para cada ión. El flujo de K^+ se produce desde adentro hacia fuera a favor de su gradiente de concentración, y el flujo de Na^+ se produce desde afuera hacia adentro a favor de su gradiente de concentración.

Como vimos anteriormente, en las condiciones planteadas el E_{eq}^K es -88 mV, muy diferente al E_{eq}^{Na} que es +69 mV, por lo tanto, de no modificarse dichas condiciones, ambos iones no pueden alcanzar su equilibrio electroquímico simultáneamente. ¿Cuál será entonces el valor del potencial de membrana del liposoma que se establece en este caso? Dependerá de las propiedades de los canales iónicos que ofrecen las vías de pasaje de los iones. Si las condiciones fijadas inicialmente no se modifican, el sistema alcanzará un **estado estacionario** en el cual el **potencial de la membrana V_m** del liposoma tomará un **valor comprendido entre los valores de los E_{eq} de los iones permeantes,** en este caso el K^+ y el Na^+.

Para analizar cómo se alcanza dicho estado estacionario en la membrana del liposoma recuerde que, debido a que los iones poseen cargas netas, el flujo de iones que pasa a través de los canales iónicos presentes en la membrana se puede pensar como una corriente eléctrica (en este caso de iones) y por lo tanto podemos aplicar la ley de Ohm para definir el flujo de iones:

$$\boldsymbol{I = V/R}$$

dónde:

$\boldsymbol{I}$ = corriente (medida en amperes, A)

$\boldsymbol{R}$ = resistencia al paso de los iones por los canales iónicos (medida en Ohms, Ω)

$\boldsymbol{V}$ = diferencia de potencial (medida en voltios, V) que se genera cuando la corriente pasa por la resistencia (el canal iónico en este caso).

La ecuación también se puede expresar en función de la **conductancia**, teniendo en cuenta que esta última es la inversa de la resistencia ($G = 1/R$), (G se mide en Siemens=1/Ohm). Por lo tanto:

$$I = G.V$$

Donde I representa la magnitud de la corriente neta generada por el paso de los iones a través de sus canales iónicos, y ***G*** es la conductancia global de la membrana a los iones que generan dicha corriente.

Como se mencionó anteriormente, el movimiento de los iones por sus canales iónicos tiende a llevar al potencial de la membrana (V_m) hacia el valor del potencial de equilibrio electroquímico (E_{eq}) de dichos iones. La magnitud de la corriente generada por el flujo neto de un tipo de ion por sus canales específicos, será directamente proporcional a la diferencia que exista entre el potencial eléctrico al que se encuentran dichos iones (V_m) y el potencial eléctrico en el cual dichos iones alcanzarían el equilibrio electroquímico (E_{eq}). A la diferencia (V_m – E_{eq}) se la denomina *fuerza impulsora* de la corriente de iones. Entonces, para un dado ion X, la corriente I a través de la membrana será:

$$\mathbf{I_X = G_X.(\ V_m - E_{eq}^X)}$$

Donde **G_X** es la **conductancia de la membrana** para el ion X y depende de tres factores que determinan su valor:

- La velocidad con que los iones se mueven por cada canal iónico presente en la membrana**.** A este parámetro se lo denomina **conductancia unitaria del canal (*g_X*)** y es una propiedad de la proteína canal iónico que media el pasaje del ion.
- **El número de canales** presentes en la membrana para un ion dado (N_X): a mayor cantidad de canales selectivos para ese ion presentes en la membrana, mayor será el número de iones que puedan pasar a través de la misma por unidad de tiempo.
- **La probabilidad de apertura de cada canal iónico:** como se mencionó en el capítulo 2, los canales iónicos alternan de manera **estocástica** (o aleatoria), entre al menos un estado conformacional cerrado (que no permite el pasaje de iones) y un estado conformacional abierto (que sí permite el pasaje de iones)**.** Se puede calcular la **probabilidad** (P) de que el canal se encuentre en el estado cerrado (Pc) o en el estado abierto (Pa) a partir de datos empíricos de la actividad del canal que miden el tiempo que los canales pasan en cada estado. Como los iones sólo pueden pasar por los canales iónicos cuando éstos están abiertos, de todos los canales presentes en la membrana para un ion dado sólo contribuirán a la corriente iónica aquellos canales abiertos, por lo que la conductancia G_X de la membrana dependerá también de la probabilidad de apertura de los canales (**Pa_X**).

Teniendo en cuenta estos elementos, la expresión de la conductancia total de la membrana para el ion X es:

$$G_X = g_X.N_X.Pa_X$$

Por lo tanto, la magnitud de la corriente neta para el ion X a través de la membrana está determinada por:

$$I_X = g_X.N_X.Pa_X.(V_m - E_{eq}^X)$$

Entonces, volviendo a nuestro liposoma de la situación 3, con canales de dos tipos (canales de K^+ y canales de Na^+), definimos la corriente total de iones K^+ que pasa por todos los canales de K^+ presentes como:

$$I_K = g_K.N_K.Pa_K.(V_m - E_{eq}^K)$$

y la corriente total de iones Na^+ que pasa por todos los canales de Na^+ presentes como:

$$I_{Na} = g_{Na}.N_{Na}.Pa_{Na}.(V_m - E_{eq}^{Na})$$

Donde, por un lado, las corrientes iónicas a través de los canales generan una diferencia de potencial eléctrico a los lados de la membrana, y por otro lado, esta diferencia de potencial es uno de los elementos que determina la magnitud de dichas corrientes. Como se puede ver en la ecuación, cuanto mayor es la diferencia entre el V_m y el E_{eq} para un ion, mayor es la magnitud de la corriente de ese ion. El **flujo pasivo** de iones a través de sus canales irá siempre en el sentido de llevar a la membrana a un valor de potencial eléctrico igual al de su situación de equilibrio (E_{eq}), pero a medida que el K^+ lleva al V_m hacia el E_{eq}^K, la corriente de K^+ se hace cada vez más pequeña, mientras que la corriente de Na^+ se hace cada vez más grande porque el V_m se aleja del E_{eq}^{Na}. El incremento en la magnitud de la corriente de Na^+ hace que el V_m se acerque más al E_{eq}^{Na} (y se aleje del E_{eq}^K), lo que hace que la corriente de Na^+ disminuya y aumente la corriente de K^+.

Se alcanza así un estado en el cual la magnitud de la corriente saliente de K^+ (que tiende a llevar el V_m al E_{eq}^K) es igual a la magnitud de la corriente entrante de Na^+ (que tiende a llevar al V_m al E_{eq}^{Na}), de manera tal que a través de la membrana no hay corriente neta de cationes en ningún sentido, y el V_m alcanza un valor constante (asumiendo que los gradientes iónicos no se modifican a lo largo del tiempo[12]). El sistema alcanza una situación de estado estacionario en la cual ninguno de los iones se encuentra en estado de equilibrio, y por lo tanto hay corrientes

[12] En el liposoma planteado esta condición sólo se cumple en tiempos muy cortos, porque la continua entrada de Na^+ y salida de K^+ causarán una disipación de los gradientes de concentración de ambos iones. En las células, esta suposición es correcta ya que hay transportadores activos que continuamente transportan iones en el sentido opuesto a los flujos pasivos difusionales, y por tanto restablecen los gradientes de concentración de los iones, manteniéndolos constantes en el tiempo.

iónicas a través de ambos tipos de canal, sólo que estas dos corrientes son de igual magnitud y de sentido opuesto, por lo que el V_m se mantiene constante.

Entonces, el valor de V_m en el estado estacionario se puede calcular haciendo:

$$\mathbf{I_K + I_{Na} = 0}$$

Reemplazando en esta igualdad los valores de $\mathbf{I_K}$ y de $\mathbf{I_{Na}}$ que definimos más arriba, podemos despejar el valor de V_m y obtenemos así una ecuación que nos permite calcular el valor de V_m en el estado estacionario (*ecuación de conductancia cuerda*):

$$\mathbf{g_K.N_K.Pa_K.(V_m - E_{eq}{}^K) + g_{Na}.N_{Na}.Pa_{Na}.(V_m - E_{eq}{}^{Na}) = 0}$$

$$\mathbf{G_K.(V_m - E_{eq}{}^K) + G_{Na}.(V_m - E_{eq}{}^{Na}) = 0}$$

$$\mathbf{G_K.V_m - G_K.E_{eq}{}^K + G_{Na}.V_m - G_{Na}.E_{eq}{}^{Na} = 0}$$

Despejando $\mathbf{V_m}$ tenemos que:

$$\boldsymbol{V_m = \frac{G_K.E_{eq}{}^K + G_{Na}.E_{eq}{}^{Na}}{G_K + G_{Na}}}$$

La ecuación de conductancia cuerda muestra que el valor del V_m en el estado estacionario estará determinado por el peso relativo de las conductancias iónicas y los gradientes de concentración (recordar que el E_{eq} es una forma de expresar el gradiente de concentración en términos eléctricos).

Este sería el caso de una **célula** genérica simple donde los flujos iónicos a través de sólo dos tipos de canales (de K^+ y de Na^+) determinan el V_m.

Entonces, si la G_K es mucho mayor que la G_{Na}, como sucede en la mayoría de las células, el valor de V_m será más cercano al valor de $E_{Eq}{}^K$, mientras que si G_{Na} es mucho mayor que G_K el V_m será más cercano al $E_{Eq}{}^{Na}$. En el caso extremo de que una de las conductancias sea 0, el V_m será igual al E_{Eq} del otro ion (como vimos en los liposomas con un solo canal).

Por otra parte, si se modifica el gradiente de concentración de alguno de los iones, el E_{Eq} va a cambiar y el V_m también lo hará. Este efecto será más marcado para los iones que tengan mayor conductancia (G). A nivel celular, los cambios en la concentración extracelular de K^+ generan variaciones más importantes en el V_m que cambios de igual magnitud en la concentración de Na^+, debido a que en general en las células la G_K es mucho mayor que la G_{Na}.

Análogamente a la G_X, otro parámetro empírico equivalente que permite medir la velocidad con la que se produce el pasaje de iones a través de los canales iónicos de un lado al otro de la membrana es la permeabilidad (P). De manera equivalente a la ecuación de conductancia cuerda, la ecuación de Goldman, Hodgkin y Katz utiliza este parámetro (P) para calcular en forma teórica el V_m en reposo de una membrana.

Es importante señalar que en los distintos tipos celulares pueden participar distintos tipos de canales iónicos en la determinación del V_m de reposo, y por lo tanto las **G** de cada uno de ellos se incorporan a la ecuación de la conductancia cuerda presentada, (siempre y cuando se trate de conductancias a iones monovalentes).

Por lo tanto, si en lugar de un liposoma como el que vimos anteriormente, queremos **estimar el valor del V_m en una célula determinada** tenemos que tener en cuenta los siguientes conceptos:

- La membrana celular separa el compartimento interior o citosol del espacio extracelular. Entre los compartimentos a ambos lados de la membrana celular existe una distribución asimétrica de iones (K^+, Na^+, Ca^{2+} y Cl^-, entre otros), que se mantiene constante[13].
- La membrana celular presenta varios tipos de canales iónicos, selectivos al K^+, al Na^+, al Ca^{2+} o al Cl^-. Cada tipo de canal se encuentra en un número ***N*** mayor que 1, tiene una conductancia específica ***g***, y una ***Pa*** determinada que puede tomar valores entre 0 y 1.
- Los flujos de iones a través de dos o más tipos de estos canales generan corrientes que pueden participar en la generación de la separación de cargas que define y mantiene el V_m.

Cuando la célula está en reposo, la sumatoria de las corrientes generadas por el pasaje de los iones por todos los canales es 0, y por lo tanto el V_m se mantiene constante. En el caso de iones monovalentes, la ecuación de conductancia cuerda genérica podemos plantearla de la siguiente manera:

$$\boldsymbol{V_m = \frac{\sum_i^n G_i . E_{eq}{}^i}{\sum_i^n G_i}}$$

donde **i** corresponde a cada tipo de los **n** iones que participan en la determinación del V_m.

Una manera más precisa de conocer el potencial de membrana de una célula es medirlo mediante la utilización de técnicas electrofisiológicas (medición con electrodos intracelulares, *patch-clamp*, entre otras).

En conclusión, el **V_m es un potencial de difusión**, generado por flujos pasivos de iones. Esta diferencia de potencial se verifica en el espesor de la membrana celular debido a que los iones que atraviesan la membrana, pasando por diferentes tipos de canales iónicos, lo hacen con diferente velocidad, y por lo tanto producen una separación de cargas que genera un campo eléctrico en la membrana celular.

En el reposo, el **potencial de membrana** tiene un valor constante en el tiempo debido a que los **flujos iónicos a través de la membrana en un sentido están equilibrados con los flujos iónicos en el sentido opuesto** (es decir, la sumatoria de las corrientes generadas por el pasaje de los iones por todos los canales es 0).

[13] Esta asimetría se mantiene constante en el tiempo, por un lado gracias a la función de transportadores específicos activos primarios y secundarios que contribuyen a mantener constante la concentración iónica intracelular. Por otro lado, la concentración iónica del medio extracelular es mantenida y regulada en los distintos organismos gracias al funcionamiento de diferentes sistemas u órganos especializados que mantienen la homeostasis iónica.

Si la suma de corrientes es distinta de 0, el V_m sufrirá una variación en el tiempo. En esta situación, el valor del V_m no se puede estimar mediante la ecuación de conductancia cuerda, pero se puede medir mediante técnicas electrofisiológicas, al igual que el V_m en reposo.

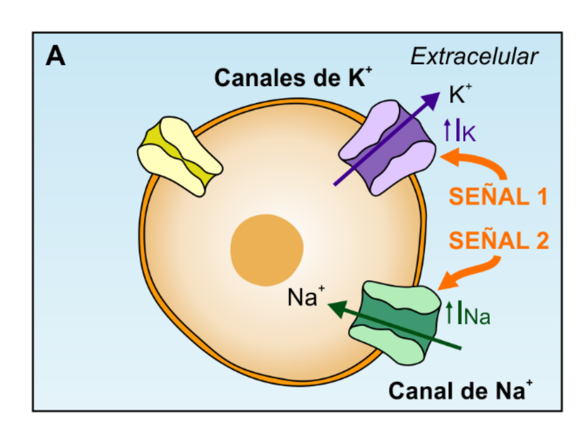
3.2 Cambios en el potencial de membrana

Teniendo en cuenta el mecanismo responsable de la generación del potencial de membrana en reposo (V_m) descripto en la sección anterior, vamos a analizar a continuación qué ocurre cuando la célula recibe señales capaces de modificar en forma directa o indirecta ese equilibrio eléctrico y por lo tanto como consecuencia se produce un **cambio en el potencial de la membrana celular**.

La señal que llega a la célula puede:

- Generar un cambio en la intensidad de las corrientes responsables del mantenimiento del V_m constante en el estado de reposo de la célula (Figura 3.4A), y/o
- Generar un cambio en la actividad de canales iónicos que no participaban del V_m en reposo, pero que estaban presentes en la membrana celular, de manera que se produzca una corriente adicional en cualquiera de los dos sentidos, que se sume a las anteriores (Figura 3.4B).

En ambos casos, se modificará el equilibrio eléctrico y en consecuencia el V_m cambiará. **El sentido y la duración en el tiempo de este cambio en el V_m**, estarán relacionados con el tipo de canales cuya actividad sea modificada por la señal y por la duración de la misma.



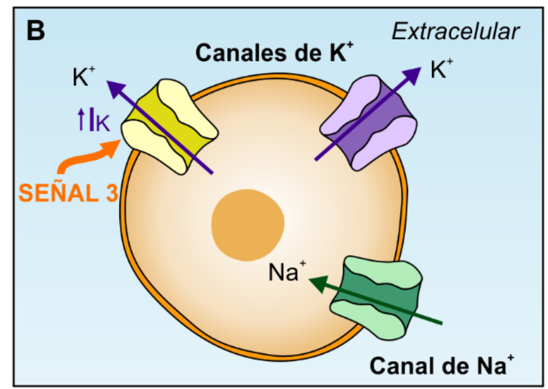


Figura 3.4: una célula en reposo (estado estacionario con V_m constante) recibe: (A) una señal que modifica los flujos iónicos de alguno de los canales responsables del mantenimiento del V_m de reposo o (B) una señal que suma un nuevo flujo iónico por un canal que no participaba en el mantenimiento del V_m de reposo. En ambos casos se genera un desbalance de los flujos iónicos de entrada y de salida de la célula, y por lo tanto cambia el V_m.

Como se mencionó anteriormente, la magnitud de la corriente generada por el flujo pasivo de un ion es función del número de canales presentes para ese ion (N_i), de la conductancia unitaria de cada uno de esos canales (g_i), de la probabilidad de apertura de los canales (Pa_i), y

del gradiente de concentración del ion a ambos lados de la membrana (que determina el valor de $\mathbf{E_{eq}}$ del ion). En los fenómenos fisiológicos, lo más frecuente es que la señal produzca un cambio en la Pa de alguno de los canales iónicos presentes en la membrana celular, sobre todo cuando se trata de cambios rápidos en el V_m, del orden de milisegundos o segundos.

De todas maneras siempre hay que considerar que la señal podría modificar también el número de canales (N) o la conductancia unitaria (g) de los canales iónicos. Los E_{eq} sólo se modificarán si la señal produce un cambio en las concentraciones iónicas del medio intra- o extracelular.

La Pa de un canal iónico puede tomar valores entre 0 (canal siempre cerrado durante el tiempo de observación) y 1 (canal siempre abierto durante el tiempo de observación) y en general su dependencia con una determinada señal sigue una relación sigmoidea entre la magnitud de la señal y el valor de la Pa. Esta relación muestra que hay sólo un rango de magnitud de la señal donde la Pa pasa de 0 a 1 (Figura 3.5).

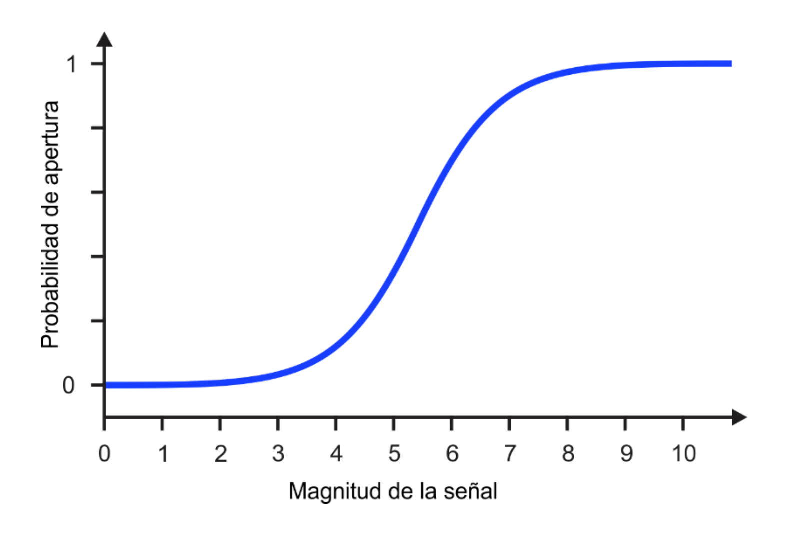


Figura 3.5: Dependencia de la probabilidad de apertura de un canal iónico genérico con la magnitud de una señal a la cual es sensible.

¿De qué manera una señal puede generar un cambio en la Pa de un canal iónico?

Produciendo un cambio conformacional en la proteína. Recordemos que los canales iónicos son proteínas de membrana que presentan dominios estructurales con afinidad por determinadas señales intra o extracelulares, las cuales, en forma directa o indirecta pueden alterar su estado conformacional.

El cambio conformacional que modifica la Pa de un canal puede ser inducido directamente:

- **Por la unión de un ligando** (canal iónico ***operado por ligando***)**:** la Pa del canal iónico cambia en función de la concentración de un ligando. La unión específica de un ligando a un dominio proteico intra o extracelular del canal provoca un cambio de conformación en la proteína, que modifica su Pa.

- **Por la influencia de un campo eléctrico generado en la membrana** (canal iónico ***operado por voltaje***)**:** la Pa del canal iónico cambia en función de la diferencia de voltaje a los lados de la membrana celular. Se los denomina también canales iónicos sensibles al voltaje o voltaje activados. Los cambios de V_m provocan el movimiento de residuos proteicos cargados, generando en la proteína un cambio de conformación que modifica su Pa.
- **Por un cambio en la temperatura** (canal iónico ***termoactivado):*** la Pa del canal iónico cambia en función de la temperatura. Se lo denomina también canal iónico sensible a la temperatura o también termoreceptor. Los cambios de temperatura provocan un cambio de conformación en la proteína que modifica su Pa.
- **Por un cambio en el estiramiento de la membrana celular** (canal iónico ***mecanoactivado***): la Pa del canal iónico cambia en función del estiramiento de la membrana celular. También se lo denomina canal iónico sensible a las señales mecánicas. El estiramiento de la membrana celular provoca un cambio de conformación en la proteína que modifica su Pa.
- **Por cambios en el pH** de la solución intra o extracelular (canal iónico ***sensible al pH***)**:** la Pa del canal iónico cambia en función del pH. Los cambios en el estado de protonación de residuos peptídicos provocan un cambio de conformación en la proteína que modifica su Pa.

Además, la fosforilación o desfosforilación de residuos proteicos, mediadas por proteínas quinasas y fosfatasas, respectivamente, puede determinar cambios en la Pa de un canal iónico. También otras modificaciones covalentes como las acilaciones o glicosilaciones, entre otras, pueden generar cambios en la Pa de los canales iónicos.

Entonces, la señal altera el equilibrio eléctrico responsable del V_m en reposo y genera un cambio del V_m en el tiempo, produciendo como consecuencia una señal eléctrica útil para la comunicación celular.

A continuación se describirán distintos tipos de señales eléctricas generadas por modificaciones del V_m:

3.2.1 Potencial de receptor

Los organismos vivos, a través de células sensoriales especializadas, pueden detectar distintos tipos de señales provenientes del exterior o de su medio interno.

En estas células se pueden generar cambios en el V_m en respuesta a diferentes tipos de señales (por ejemplo temperatura, presión, ligandos químicos, luz) y por lo tanto este cambio del V_m constituye una señal eléctrica denominada POTENCIAL DE RECEPTOR, la cual es fundamental para la función sensorial de los organismos.

¿De qué manera una señal puede cambiar el equilibrio eléctrico característico del potencial de membrana en reposo (V_m) generando así un POTENCIAL DE RECEPTOR?

En la sección anterior describimos que, en una célula genérica donde el V_m en la condición de reposo es determinado por flujos iónicos pasivos a través de canales selectivos para el ion K^+ y canales selectivos para el ion Na^+, el valor del V_m está dado por:

$$V_m = \frac{G_K.E_{eq}{}^K + G_{Na}.E_{eq}{}^{Na}}{G_K + G_{Na}}$$

Entonces, cualquier factor de la ecuación que se modifique a causa de la llegada de una señal, puede alterar ese equilibrio eléctrico, y el V_m cambiará su valor alcanzando un nuevo valor.

Si detallamos todos los términos que definen las Gi, la ecuación anterior puede expresarse como:

$$V_m = \frac{(N_K.g_K.Pa_K.E_{eq}{}^K) + (N_{Na}.g_{Na}.Pa_{Na}.E_{eq}{}^{Na})}{(N_K.g_K.Pa_K) + (N_{Na}.g_{Na}.Pa_{Na})}$$

Para la generación de un POTENCIAL DE RECEPTOR, la señal podría modificar:

- La Pa de los canales iónicos responsables del mantenimiento del potencial de membrana en reposo (aumentando o disminuyendo la Pa_K o la Pa_{Na} en el caso de la célula genérica elegida)
- La Pa de canales iónicos que están en la membrana celular y que no participan en el mantenimiento del V_m de reposo (porque en esas condiciones presentan una Pa de 0), pero cuya Pa puede aumentar en función de la señal.

En cualquiera de los dos casos, el* V_m *va a cambiar *y* el cambio podrá ser una despolarización (el V_m se hace más positivo que el valor de reposo) o una hiperpolarización (el V_m se hace más negativo que el valor de reposo), como se muestra en la Figura 3.6.

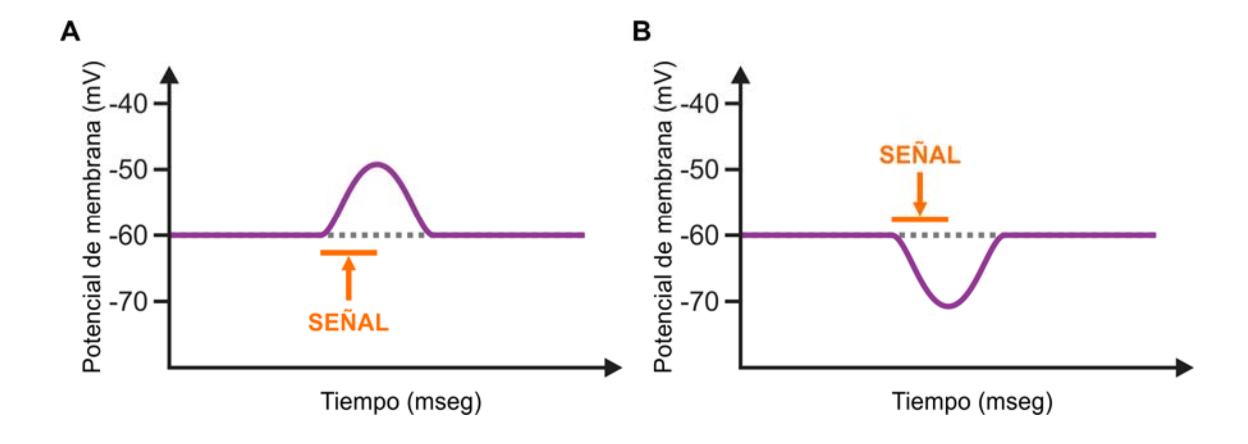


Figura 3.6 Cambio del potencial de membrana (V_m) en función del tiempo en respuesta a una señal, (A) hacia valores menos negativos (despolarización) y (B) hacia valores más negativos (hiperpolarización).
En cada caso, al desaparecer la señal que causó la perturbación, el sistema regresa al V_m de reposo.

Cuando se genera el POTENCIAL DE RECEPTOR, el cambio en el V_m que se produce en respuesta a la llegada de la señal puede durar el tiempo que dura la señal, puede terminar antes de que desaparezca la señal o puede permanecer más tiempo que el que dura la señal, como se observa en la Figura 3.7.

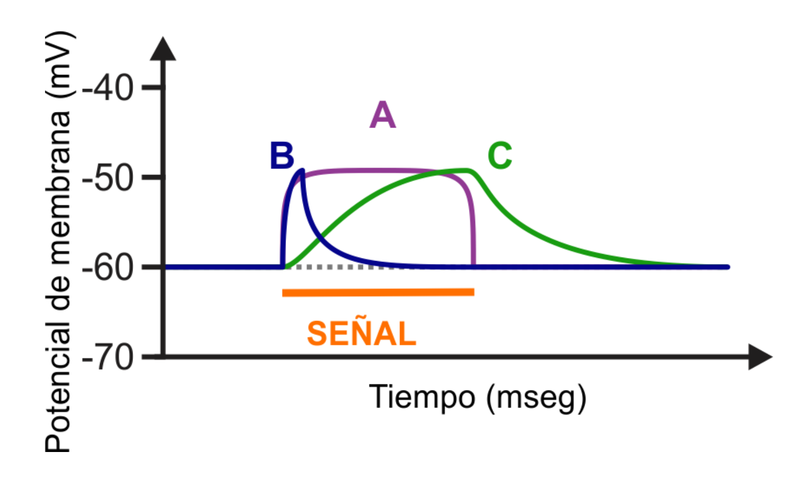


Figura 3.7 Cambio del potencial de membrana (V_m) en función del tiempo en respuesta a una señal. En esta situación, el cambio del Vm hacia valores más positivos (despolarización) se mantiene constante mientras dura la señal (curva A), termina antes de que se retire la señal (curva B) o permanece más tiempo del que dura la señal (curva C).

Analicemos en primer lugar el caso de la Figura 3.6A, en el cual el cambio del V_m que produce la señal es una **despolarización**, y veremos que cualquiera de los siguientes mecanismos puede explicar por qué la señal produce un cambio en el V_m hacia valores más positivos comparados con el valor de V_m en la situación de reposo:

Mecanismo 1.1: la señal genera un aumento en la Pa de los canales de Na^+ que participan en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo u otros canales de Na^+ diferentes, pero selectivos al ion Na^+.

Entonces, aumenta la corriente entrante de Na^+, se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m tiende a valores más cercanos al E_{eq}^{Na}. Vale la pena recordar que en condiciones fisiológicas el E_{eq}^{Na} es aproximadamente +60 mV, un valor muy lejano al V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor despolarizante que alcance el V_m dependerá de la magnitud del aumento en la Pa de los canales de Na^+ generado por la señal (Figura 3.8A).

Mecanismo 1.2: la señal genera una disminución en la Pa de los canales de K^+ que participan en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo. Entonces, disminuye la corriente saliente de K^+, se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m se aleja del valor de E_{eq}^{K}, que en condiciones fisiológicas es aproximadamente -84 mV, un valor un poco más negativo que el V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor despolarizante que alcance el V_m dependerá de la magnitud de la disminución en la Pa de los canales de K^+ generada por la señal (Figura 3.8B).

Mecanismo 1.3: la señal genera un aumento en la Pa de canales selectivos al ión Ca^{2+} que, en esta célula genérica, no participan en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo pero están en la membrana y son sensibles a la señal. Entonces, se genera una corriente

entrante de Ca^{2+} a través de estos canales que se suma a las que mantienen el V_m, y así se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m tiende a valores más cercanos al E_{eq}^{Ca}, que en condiciones fisiológicas es aproximadamente +160 mV (o mayor), un valor muy lejano al V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor despolarizante que alcance el V_m dependerá de la magnitud del aumento en la Pa de los canales de Ca^{2+} generado por la señal (Figura 3.8C).

Mecanismo 1.4: la señal genera un aumento en la Pa de canales catiónicos no selectivos que no participan en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo de esta célula genérica pero que están en la membrana y son sensibles a la señal. Entonces, se genera a través de estos canales una corriente entrante de cationes que se suma a las que mantienen el V_m de reposo, y así se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m tiende a valores más cercanos al E_{eq}^{Cat}. Conviene recordar que en condiciones fisiológicas, y asumiendo una conductancia similar para los diferentes cationes, el E_{eq}^{Cat} es aproximadamente 0 mV, un valor lejano al V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor despolarizante que alcance el V_m dependerá de la magnitud del aumento en la Pa de los canales catiónicos no selectivos generado por la señal (Figura 3.8D).

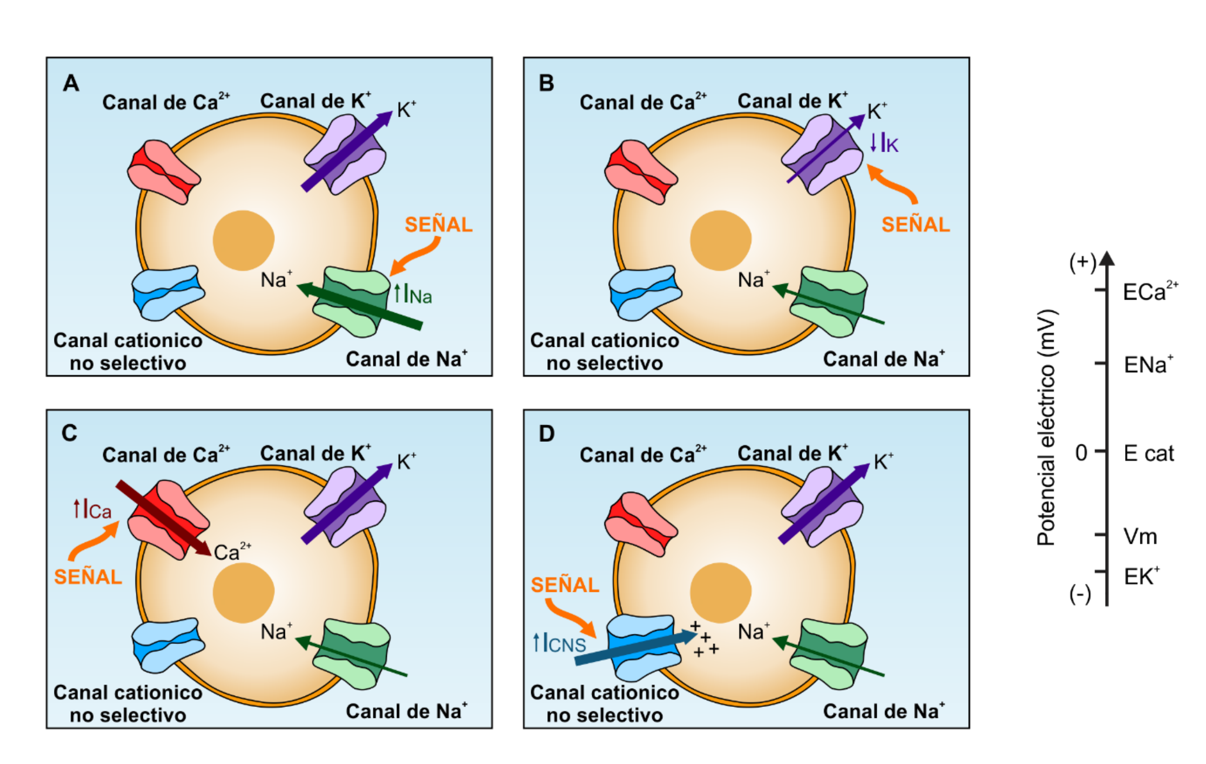


Figura 3.8: Diferentes maneras de lograr una despolarización en una célula que está en reposo (V_m constante): (A) una señal hace aumentar el flujo de Na^+, altera el equilibrio eléctrico haciendo que el V_m se acerque más al potencial de equilibrio del Na^+ (E_{eq}^{Na} =+60 mV) y se vuelva menos negativo. (B) una señal hace disminuir el flujo de K^+, altera el equilibrio eléctrico haciendo que el V_m se aleje del potencial de equilibrio del K^+ (E_{eq}^{K} =-84 mV) y se vuelva menos negativo, acercándose más al potencial de equilibrio del Na^+ (E_{eq}^{Na} =+60 mV). (C) una señal hace aumentar el flujo de Ca^{2+}, altera el equilibrio eléctrico haciendo que el V_m se acerque más al potencial de equilibrio del Ca^{2+} (E_{eq}^{Ca} =+160 mV) y se vuelva menos negativo. (D) una señal hace aumentar el flujo de cationes por un canal catiónico inespecífico, altera el equilibrio eléctrico haciendo que el V_m se acerque más al potencial de equilibrio de los cationes (E_{eq}^{Cat} =0 mV) y se vuelva menos negativo.

Cualquiera de estos 4 mecanismos puede explicar en esta célula genérica, por qué el V_m podría cambiar hacia valores despolarizados cuando llega una señal.

Tomemos ahora el caso de la Figura 3.6B en la que el cambio en el V_m es una **hiperpolarización** y veremos que cualquiera de los siguientes mecanismos puede explicar por qué, cuando llega una señal, el V_m podría cambiar a valores más negativos que el de reposo:

Mecanismo 2.1: la señal genera una disminución en la Pa de canales de Na^+ que participaban en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo. Entonces, disminuye la corriente entrante de Na^+ a través de estos canales, se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m se aleja aún más del valor de E_{eq}^{Na}, que en condiciones fisiológicas es aproximadamente +60 mV, un valor muy lejano al V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor hiperpolarizante que alcance el V_m dependerá del grado de disminución en la Pa de los canales de Na^+ que la señal logre provocar.

Mecanismo 2.2: la señal genera un aumento en la Pa de los canales de K^+ que participan en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo. Entonces, aumenta la corriente saliente de K^+, se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m se acerca al valor de E_{eq}^{K} , que en condiciones fisiológicas es aproximadamente -80 mV, un valor más negativo que el V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor hiperpolarizante que alcance el V_m dependerá del grado de aumento en la Pa de los canales de K^+ que la señal logre provocar.

Mecanismo 2.3: la señal genera un aumento en la Pa de canales de Cl^- que no estaban participando en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo pero que están presentes en la membrana celular y son sensibles a la señal. Entonces, aumenta una corriente entrante de Cl^-, se altera el equilibrio eléctrico que existía en el reposo y el V_m tiende a valores más cercanos al E_{eq}^{Cl}, que en condiciones fisiológicas es aproximadamente -90 mV, un valor un poco más negativo que el V_m de reposo de una célula típica (por ej. -60 mV). El valor hiperpolarizante que alcance el V_m dependerá de la magnitud del aumento en la Pa de los canales de Cl^- generado por la señal.

Por lo tanto para el caso de la célula genérica de la figura 3.6A, ante la llegada de una señal, el V_m asume un valor más positivo que su potencial de reposo, es decir se genera un potencial de receptor despolarizante, que regresa al valor del V_m inicial cuando cesa la señal. Si este fenómeno ocurre mediante el mecanismo 1.1, 1.2, 1.3 o 1.4 habrá que analizarlo en cada célula sensorial en particular. En el caso de la figura 3.6B, ante la llegada de una señal, el V_m asume un valor más negativo que su potencial de reposo, es decir se genera un potencial de receptor hiperpolarizante, que regresa al valor del V_m inicial cuando cesa la señal. Si este fenómeno ocurre mediante el mecanismo 2.1, 2.2 o 2.3 habrá que analizarlo en cada célula sensorial en particular.

Entonces, hasta ahora sabemos cuáles son los mecanismos que pueden generar una despolarización o una hiperpolarización que comienza con la llegada de una señal y termina cuando la señal desaparece (curva A de la figura 3.7). Sin embargo en muchos casos los potenciales de receptor tienen un curso temporal como los que se observan en las curvas B y C de la figura 3.7. En el caso B, la llegada de la señal induce rápidamente una despolarización de la membrana hasta un valor determinado, que luego decae en el tiempo hacia otro valor de V_m menor, a pesar de que la señal sigue presente en forma constante.

Para entender este comportamiento es necesario saber que la Pa de los canales iónicos puede variar en función del tiempo aún ante la presencia de una señal que los estimule o inhiba en forma constante. La actividad de un canal (Pa) en un período de tiempo puede tener un valor en el instante inicial y otro diferente (mayor o menor) en el instante final del tiempo observado. Esta propiedad explica por qué una señal (aún siendo constante) puede generar un cambio en el V_m con diferentes variaciones temporales.

Entonces, en el caso del potencial de receptor de la figura 3.7 curvas B y C, los mecanismos descriptos anteriormente pueden explicar el sentido despolarizante del cambio en el V_m, y la variación de la Pa en el tiempo explica por qué, en estos casos, el nuevo valor del V_m no se mantiene constante durante el tiempo que dura la señal. En el caso B disminuye en presencia de la señal y en el caso C se mantiene mayor al reposo aún luego de la finalización de la señal. Podríamos plantear casos análogos para un potencial de receptor hiperpolarizante que cambia en el tiempo.

Es importante subrayar que la magnitud del potencial de receptor es gradual, es decir, su valor depende de la intensidad de la señal (temperatura, estiramiento, ligando, luz etc.) y se produce en el punto de la membrana donde llega la señal a la célula receptora (neurona sensorial o célula sensorial especializada). Las zonas adyacentes a dicho punto están en su valor de V_m de reposo, y reciben una corriente iónica, denominada **corriente electrotónica**, generada por la diferencia de potencial que se establece entre ambas zonas. Esta corriente electrotónica modifica el V_m de las zonas adyacentes pero su efecto se atenúa a medida que se aleja del lugar donde se produjo el potencial de receptor despolarizante (ver este mecanismo con más detalle en el capítulo 5).

Como resumen, respecto al POTENCIAL DE RECEPTOR podemos decir que:

> Cuando la célula recibe una señal que en forma directa o indirecta produce un aumento o disminución de la Pa de un determinado tipo de canal iónico sensible a la señal, se altera el equilibrio eléctrico (del estado de reposo) y se generará un desequilibrio entre los flujos iónicos entrantes y salientes. Por lo tanto, habrá un flujo neto de corriente en alguna de las dos direcciones. Este evento producirá un cambio en el potencial de membrana que tendrá una magnitud dependiente de la intensidad de la señal y una duración en el tiempo igual o menor a la duración de la señal.

3.2.2 Potencial post-sináptico

Otro tipo de señal eléctrica, fundamental en la función del sistema nervioso, es el POTENCIAL POST-SINÁPTICO, un cambio transitorio en el V_m de la membrana post-sináptica de una sinapsis química.

Las sinapsis químicas son sitios de comunicación entre células en las cuáles una región de una célula (la presinapsis) libera un neurotransmisor (NT, diferentes tipos de moléculas) al espacio intersináptico, donde aumenta su concentración y puede unirse a su receptor específico situado en la membrana postsináptica (región de la segunda célula adyacente a la primera).

Anteriormente vimos que una señal que cambia la Pa de un canal iónico genera un cambio en el V_m. En el caso del potencial post-sináptico la señal es el aumento de la concentración de un neurotransmisor (NT) en el espacio intersináptico, generado por la liberación del mismo desde la región presináptica.

En la membrana post-sináptica, lo más frecuente, es que el neurotransmisor se una a su receptor específico (proteína presente en dicha membrana que presenta afinidad por ese neurotransmisor) y produzca directa o indirectamente un cambio en la Pa de canales iónicos, generando una corriente adicional que altera el equilibrio eléctrico del reposo y cambia el V_m:

- Cuando el receptor para el neurotransmisor es un RECEPTOR CANAL IONICO O RECEPTOR IONOTROPICO, la unión del neurotransmisor es la que provoca el cambio de Pa del mismo en forma directa. De esta manera el cambio en la Pa del receptor canal iónico produce una corriente adicional a las que mantienen el V_m de reposo, altera el equilibrio eléctrico, y el V_m cambia durante el tiempo en que los receptores estén activados por el ligando.
- Cuando el receptor para el neurotransmisor es un RECEPTOR METABOTROPICO (no posee un canal iónico en su estructura, solo posee un sitio de afinidad por el NT), la unión del neurotransmisor activa el receptor, y éste a través de una cascada de señalización intracelular o una interacción proteína-proteína, provoca el cambio de Pa de otros canales iónicos localizados en la membrana post-sináptica. De esta manera se altera el equilibrio eléctrico del reposo y el V_m cambia durante el tiempo que sea efectiva la respuesta de la célula a la activación de los receptores metabotrópicos.

Nuevamente, si bien no es lo más frecuente, no hay que descartar que en una sinapsis el NT directa o indirectamente pueda cambiar el número de canales (N) o la conductancia unitaria de los receptores canales iónicos (g). Los E_{eq} sólo se modificarán si el NT produce un cambio en las concentraciones iónicas del medio intra y/o extracelular.

Como existen numerosos tipos de receptores, el análisis de la generación del potencial post-sináptico en cada tipo de sinapsis requiere del conocimiento de las particularidades de cada una de ellas.

En general, podemos decir que si agregamos a la ecuación de conductancia cuerda, una componente adicional que represente la activación de receptores canales iónicos o de los ca-

nales iónicos activados como consecuencia de la activación de un receptor metabotrópico, el valor del V_m va a cambiar:

$$Vm = \frac{GK.EeqK + GNa.EeqNa + GR.EeqR}{GK + GNa + GR}$$

dónde:

$GK = N.g_K.Pa_K$

$GNa = N.g_{Na}.Pa_{Na}$

$GR = N.g_{receptor}.Pa_{receptor}$

y el nuevo V_m cambiará en el tiempo en función del cambio que sufra la Pa del canal sensible directa o indirectamente a la concentración del neurotransmisor. **Este cambio temporal del V_m se denomina potencial post-sináptico.**

Recordemos que esta ecuación no podemos utilizarla para un análisis de la variación de potencial de la membrana en el tiempo, pero nos sirve para pensar cómo se alcanza el desequilibrio eléctrico inicial que produce el cambio en el V_m.

El potencial post-sináptico puede cambiar hacia valores de V_m más positivos generando una despolarización de la membrana, denominado potencial post-sináptico excitatorio (PPE), o hacia valores de V_m más negativos generando una hiperpolarización de la membrana, denominado potencial post-sináptico inhibitorio (PPI) (Figura 3.9).

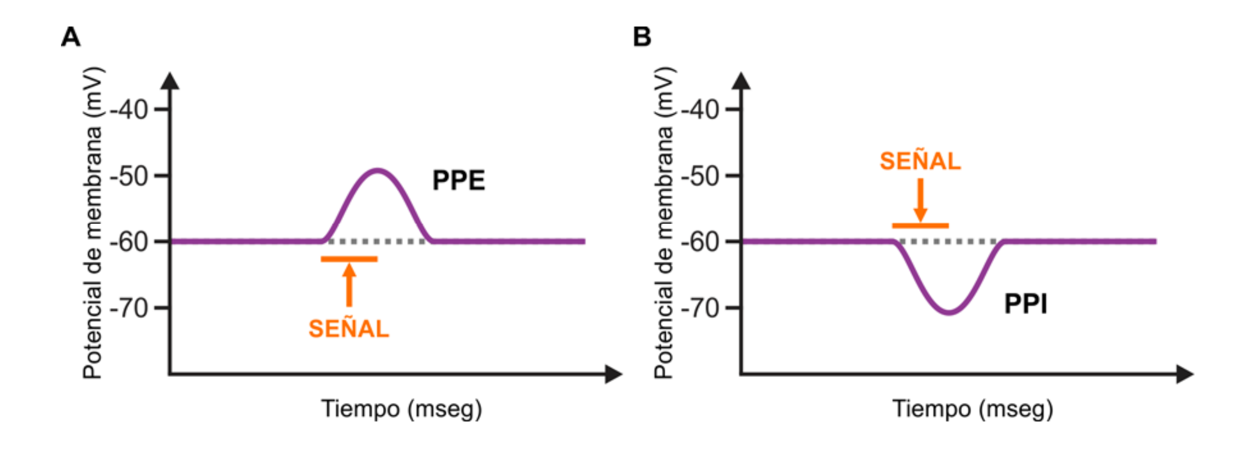


Figura 3.9: Diferentes potenciales postsinápticos generados por la llegada de un neurotransmisor que actúa como señal: (A) el V_m cambia hacia valores más positivos y se denomina potencial postsinaptico excitatorio (PPE), (B) el V_m cambia hacia valores menos positivos y se denomina potencial postsinaptico inhibitorio (PPI).

¿De qué depende que el PP sea excitatorio o inhibitorio?

De la misma manera que se describió en el caso de los potenciales de receptor, en este caso, que el NT produzca un cambio despolarizante del V_m o hiperpolarizante va a depender del tipo de corriente que se genere como consecuencia de la activación del receptor. Los meca-

nismos que pueden explicar el tipo de potencial postsináptico son los mismos descriptos anteriormente para potencial de receptor (sección 3.2.1).

La duración de un potencial postsináptico está relacionada, como se vio en el caso anterior, con la variación temporal de la Pa del canal en función del ligando.

Es importante subrayar que la magnitud del potencial postsináptico es gradual, y depende de la intensidad de la señal (en este caso la concentración del neurotransmisor), se produce en un punto de la membrana postsináptica, y genera corrientes electrotónicas entre dicho punto y las zonas adyacentes modificando el V_m de estas últimas. Al igual que en el caso anterior, estas corrientes se atenúan cuando se van propagando a zonas más alejadas del punto donde se generó el potencial postsináptico (ver este mecanismo con más detalle en el capítulo 5)

Como resumen, respecto al POTENCIAL POSTSINAPTICO podemos decir que:

Si en el espacio intersináptico aumenta la concentración de un NT a valores que logren activar a los receptores localizados en la membrana postsináptica, directa o indirectamente se alterará el equilibrio eléctrico del estado de reposo generando un desequilibrio entre los flujos iónicos entrantes y salientes. Por lo tanto, habrá un flujo neto de corriente en dirección entrante o en dirección saliente. Este evento producirá un cambio en el potencial de membrana que denominamos POTENCIAL POSTSINAPTICO y que tendrá una magnitud dependiente de la intensidad de la señal y una duración en el tiempo correspondiente al tiempo que dure el desequilibrio eléctrico.

3.2.3 Potencial de acción

Otro tipo de cambio en el potencial de membrana, fundamental para la comunicación celular, es el POTENCIAL DE ACCION, un cambio muy rápido y transitorio del potencial de membrana que cada vez que se produce mantiene siempre la misma magnitud y duración, con capacidad de autopropagarse sin atenuación a lo largo de la membrana celular.

Las neuronas, las células de músculo esquelético, las células marcapaso cardíacas y las células musculares cardíacas son capaces de generar un potencial de acción (PA) que, en general, presenta una fase rápida despolarizante inicial (el V_m toma valores más positivos que el V_m de reposo) seguida de una fase, también rápida, repolarizante por la cual el V_m vuelve a los valores de reposo. Si bien todos los potenciales de acción presentan estas características en común, el PA de cada tipo celular presenta propiedades particulares.

A continuación vamos a analizar el potencial de acción típico de:

1) Una neurona
2) Una célula de músculo esquelético
3) Una célula de músculo cardíaco
4) Una célula marcapaso cardíaco

1) Potencial de acción de una neurona.

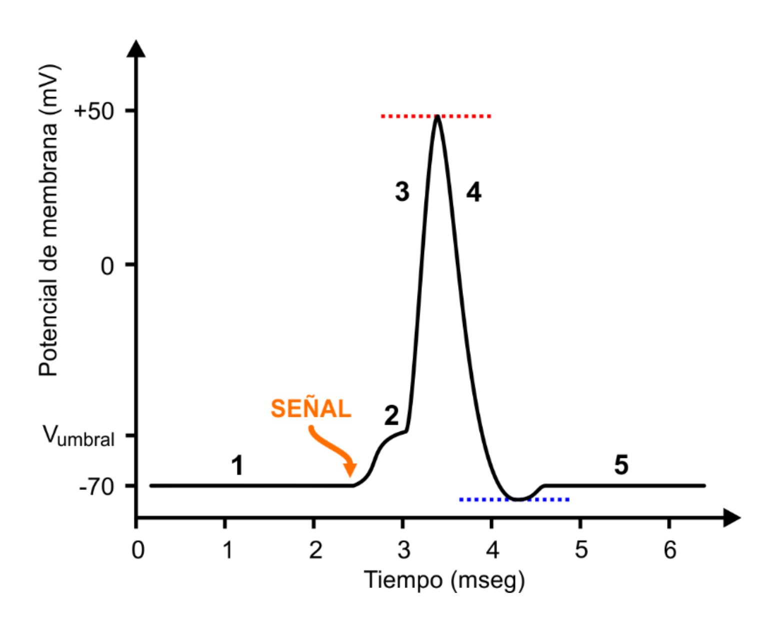


Figura 3.10: Potencial de acción neuronal

En una neurona, el potencial de acción se genera a partir de la llegada de una señal capaz de inducir un cambio en el V_m alejándolo de su valor de reposo. Este cambio del V_m es detectado por canales iónicos sensibles al voltaje presentes en la membrana de la neurona (más adelante describiremos de qué se trata la señal en el contexto fisiológico). Por lo tanto, en este caso, la señal para que se produzca el potencial de acción es un cambio en el V_m.

Iniciamos la descripción considerando que la célula se encuentra en su V_m de reposo (a -70 mV en la figura 3.10). A esta condición de equilibrio eléctrico, la señal suma una corriente despolarizante que cambia el potencial de membrana hacia valores menos negativos. Esta despolarización genera un pequeño cambio en la probabilidad de apertura de canales de Na^+ sensibles al voltaje presentes en las células neuronales. Como consecuencia, se incrementa la corriente entrante de Na^+ y el V_m se despolariza aún más (de 1 a 2 en la figura 3.10). Si esa despolarización inicial alcanza el valor de V_m que se denomina **potencial umbral (V_{umbral})**, (punto 2 de la figura), una mayor proporción de canales de Na^+ aumenta su probabilidad de apertura, y se incrementa aún más la corriente de Na^+ despolarizando aún más la membrana e incrementando aún más la Pa de los mismos llevando, mediante un mecanismo de retroalimentación positiva, el V_m hacia valores cercanos al E_{eq}^{Na} (valor máximo teórico del potencial de acción, linea punteada roja en la figura 3.10).

Estos canales de Na^+ sensibles al voltaje tienen la particularidad de que, una vez alcanzado el estado abierto, la presencia de la membrana despolarizada les induce un nuevo cambio conformacional a un estado inactivado por el cual no pasan iones (figura 3.11). Por lo tanto, luego de su apertura (durante la fase 3 del PA de la figura 3.10) los canales de Na^+ se inactivan y la corriente de Na^+ que llevaba el V_m hacia valores cercanos al E_{eq}^{Na} desaparece. El V_m por lo tanto comienza a hacerse cada vez menos positivo, tendiendo nuevamente al V_m de reposo

cercano al E_{eq}^{K} (fase 4 de repolarización del PA). Esta fase 4 de repolarización es muy rápida porque participan también canales de K^+ sensibles al voltaje cuya probabilidad de apertura también aumenta con la despolarización inicial. Como la cinética de activación de estos canales de K^+ (es decir, el cambio que el voltaje produce en la Pa_K) es más lenta que la de los canales de Na^+, el efecto de su apertura en el potencial de membrana se observa temporalmente de manera simultánea con la inactivación de los canales de Na^+. En la fase 4 repolarizante, la mayor probabilidad de apertura de los canales de K^+ genera una corriente de K^+ saliente que hace que el V_m tienda al E_{eq}^{K} (cercano al V_m de reposo) y, como los canales de Na^+ están inactivados, no hay corriente que se oponga a ese efecto, por lo cual la membrana se repolariza muy rápidamente. Todo el cambio de potencial descripto ocurre en aproximadamente 2 milisegundos.

Resumiendo, la señal, mediante su cambio inicial del V_m:

- En primer lugar genera una despolarización inicial que lleva el Vm a un valor crítico denominado potencial umbral (punto 2 del PA de la figura 3.10) a partir del cual el aumento en la probabilidad de apertura de los canales de Na^+ sensibles al voltaje, aumenta en el tiempo y se retroalimenta positivamente (mayor Pa, más despolarización y entonces mayor Pa) dando lugar a la fase despolarizante del PA.
- El mismo estímulo genera un aumento en la probabilidad de apertura de los canales de K^+ también sensibles al voltaje, que se manifiesta con un leve retardo, y que, junto con la inactivación de los canales de Na^+, da lugar a la fase repolarizante del PA

En algunos tipos celulares se puede observar en sus potenciales de acción una última fase donde el V_m toma valores hiperpolarizados respecto a su potencial de reposo inicial (línea punteada azul en la figura), debido a que la probabilidad de apertura de los canales de K^+, que aumentó durante la fase 4, todavía no volvió a los valores correspondientes a los del V_m en reposo. Durante el tiempo que les lleva a los canales de K^+ volver hasta los valores de probabilidad de apertura del reposo, el V_m se acerca aún más al E_{eq}^{K}, para luego volver al valor de reposo cuando el valor de probabilidad de apertura de los canales de K^+ adquiere nuevamente el valor inicial (fase 5 del PA de la figura 3.10).

Si el estímulo lleva al potencial de membrana hasta el valor del potencial umbral, o lo supera, el potencial de acción generado es siempre igual (misma magnitud y duración) sin importar la magnitud del estímulo. Pero si el estímulo despolariza la membrana a valores menores que el potencial umbral, el potencial de acción no se genera. Por esta razón se define al potencial de acción como una respuesta eléctrica a **todo o nada**.

Otro evento que ocurre durante la repolarización de la membrana (fase 4) es que los canales de Na^+ sufren un nuevo cambio conformacional y pasan del estado inactivado al estado cerrado. Si bien este cambio no tiene efecto sobre el valor del Vm, porque en ambos estados el canal no conduce corriente, sí es muy importante, ya que desde el estado inactivado el canal no puede pasar directamente al estado abierto, necesita estar en el estado cerrado

para volver a abrirse ante la llegada de una nueva señal (Figura 3.11). Este fenómeno brinda a la célula la posibilidad de generar un segundo potencial de acción luego de la repolarización.

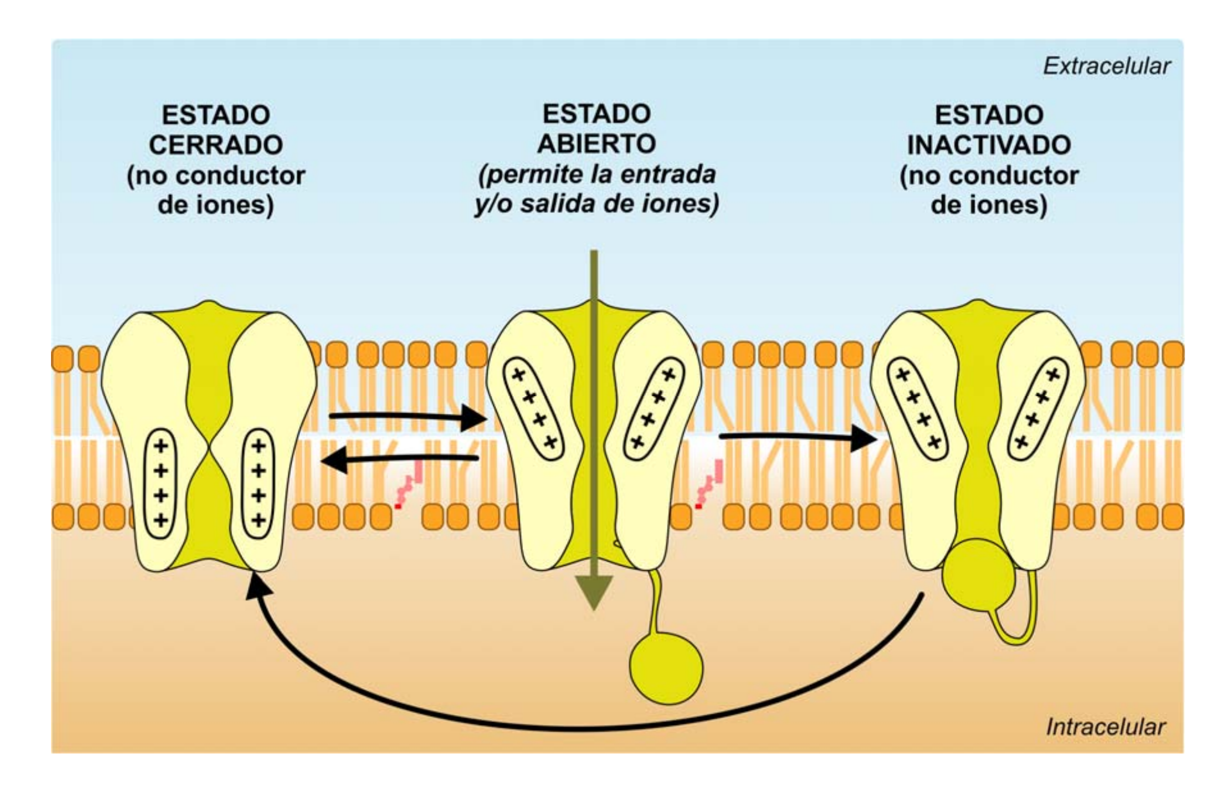


Figura 3.11: Representación esquemática de los cambios conformacionales que se producen en los canales de Na^+ operados por voltaje

Esta característica de los canales de Na^+ explica por qué una célula que está generando un potencial de acción no puede responder con otro potencial de acción igual si un nuevo estímulo llega antes de que el V_m haya regresado a su valor de reposo. Al tiempo durante el cual la célula no puede evocar un nuevo potencial de acción se lo denomina **período refractario** y se divide en período refractario absoluto (se corresponde con la fase despolarizante del PA) y período refractario relativo (se corresponde con la fase repolarizante del PA).

Además esta característica de los canales de Na^+ también le permite al potencial de acción propagarse sólo en una dirección, como veremos a continuación:

En general, el potencial de acción se produce en un lugar determinado de la neurona cercano al punto donde la célula recibe el estímulo. Una vez que comienza un potencial de acción, la despolarización que genera en la membrana sirve de estímulo para iniciar un nuevo potencial de acción en una zona adyacente y el fenómeno se repite en ese nuevo lugar. Así sucesivamente puede repetirse a lo largo de todo el axón de una neurona.

A esta propiedad del potencial de acción se la denomina autopropagación. En condiciones fisiológicas, el potencial de acción de la neurona se propaga sólo en una dirección, debido a que el cambio en el V_m en el lugar donde se produce el potencial de acción, es efectivo como estímulo sólo en la zona adyacente que se encuentra en reposo, mientras que en la zona donde se está generando el cambio los canales de Na^+ están inactivados y por lo tanto en estado refractario.

Mediante este mecanismo, un pequeño estímulo que sea capaz de llevar el V_m de una neurona desde el valor de reposo hasta su valor umbral, puede inducir la generación de una señal eléctrica, el POTENCIAL DE ACCION, que se autopropaga unidireccionalmente a lo largo del axón sin que la señal se atenue, manteniendo su amplitud y duración durante todo el recorrido.

2. Potencial de acción de una célula de músculo esquelético

En una célula de músculo esquelético existen canales de Na^+ sensibles al voltaje y canales de K^+ sensibles al voltaje con propiedades similares a las de los canales de la neurona, por lo que el mecanismo básico por el cual se genera un potencial de acción es igual al descripto en el párrafo anterior para una neurona típica. La principal diferencia es que en el músculo esquelético el potencial de acción es un poco más largo y la fase de repolarización presenta una fase rápida y una fase lenta. También en este caso el estímulo debe ser capaz de inducir un cambio en el V_m que lo lleve desde el valor de reposo hasta el potencial umbral (en la figura 3.12 se esquematiza con la flecha y en el capítulo 5 describiremos de qué se trata el estímulo en el contexto fisiológico). El PA en el músculo esquelético es fundamental para que se pueda desencadenar la contracción (ver capítulo 5).

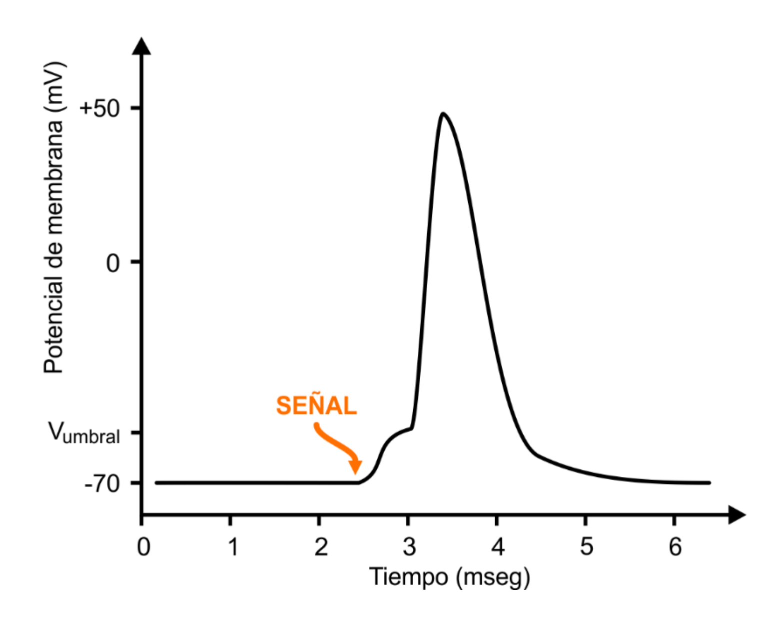


Figura 3.12: Potencial de acción de músculo esquelético

3. Potencial de acción de una célula de músculo cardiaco.

En estas células el potencial de acción (figura 3.13) se genera a partir de la llegada de un estímulo capaz de alejar al V_m de su valor de reposo hacia valores más despolarizados (más adelante describiremos de qué se trata el estímulo en el contexto fisiológico).

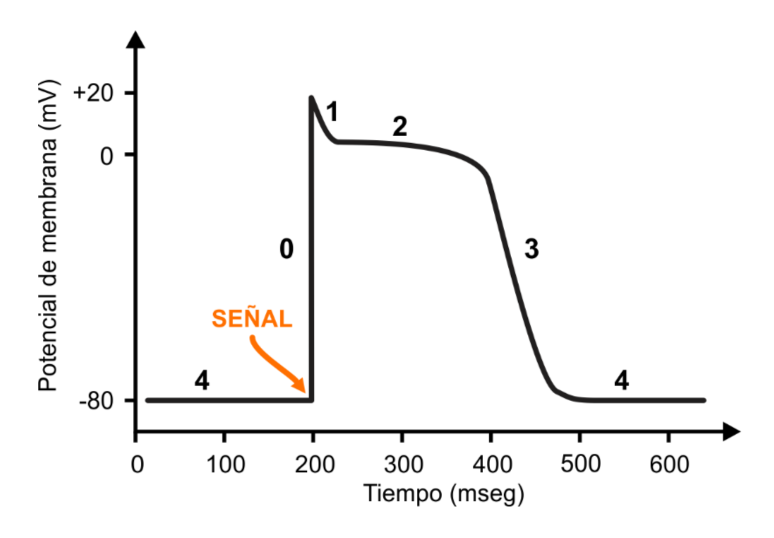


Figura 3.13: Potencial de acción del músculo cardíaco

Las células de músculo cardiaco poseen canales de Na^+ sensibles al voltaje y canales de K^+ sensibles al voltaje con propiedades similares a los presentes en las células de músculo esquelético y en las neuronas. Además, en la generación de potenciales de acción en estas células participan, entre otros, canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje y un tipo de canales de K^+ sensibles al voltaje que presentan inactivación.

Iniciamos la descripción considerando que la célula se encuentra en su V_m de reposo (en esta figura a -80 mV, fase 4) y a esta condición de equilibrio eléctrico, el estímulo suma una corriente despolarizante que genera una fase de despolarización (fase 0) mediante el mismo mecanismo descripto para el axón neuronal. Pocos milisegundos después de su apertura, los canales de Na^+ sensibles al voltaje pasan al estado inactivado y la corriente de Na^+ que llevaba el V_m hacia valores más cercanos al E_{eq}^{Na} desaparece. El V_m por lo tanto comienza a tomar valores cada vez menos positivos (fase 1, repolarización rápida del potencial de acción cardíaco) alcanzado un valor al cual se mantiene constante durante aproximadamente 200 milisegundos (fase 2, denominada meseta del potencial de acción cardíaco). Este efecto se debe a que, con la despolarización de la fase 0 aumenta la probabilidad de apertura de dos tipos de canales de K^+ (K_A y K_D) y un tipo de canales de Ca^{2+} (Ca_L) todos sensibles al voltaje. El primer tramo de repolarización (fase 1), es generado por una corriente de K^+ saliente a través de los canales K_A que desaparece rápidamente porque esos canales presentan inactivación. Sin embargo la célula se mantiene despolarizada durante la meseta (fase 2) debido a que, más lentamente, se van activando los canales K_D y los canales de calcio Ca_L. Los canales de Ca^{2+} generan una corriente entrante de Ca^{2+} despolarizante que está balanceada por una corriente de K^+ saliente repolarizante. Estos dos fenómenos ocurren en simultáneo y son los responsables de que el V_m se mantenga casi constante por un tiempo, a valores despolarizados cercanos a 0 mV (fase 2). Los canales de Ca^{2+} lentamente se inactivan mientras que la probabilidad de apertura de los canales de K^+ se mantiene alta. Entonces las corrientes se desbalancean, prevaleciendo la corriente saliente de K^+, y en consecuencia el V_m comienza a asumir valores más

negativos, repolarizando la membrana celular (fase 3). Finalmente la probabilidad de apertura de los canales de K^+ alcanza nuevamente los valores de reposo y por lo tanto el V_m también (fase 4). Todo el cambio de potencial descripto ocurre en aproximadamente 200 milisegundos.

4. Potencial de acción de las células marcapaso del nodo sinoauricular del corazón

En estas células se produce un potencial de acción típico que no necesita un estímulo para generarse, por eso se denomina potencial de acción autorítmico.

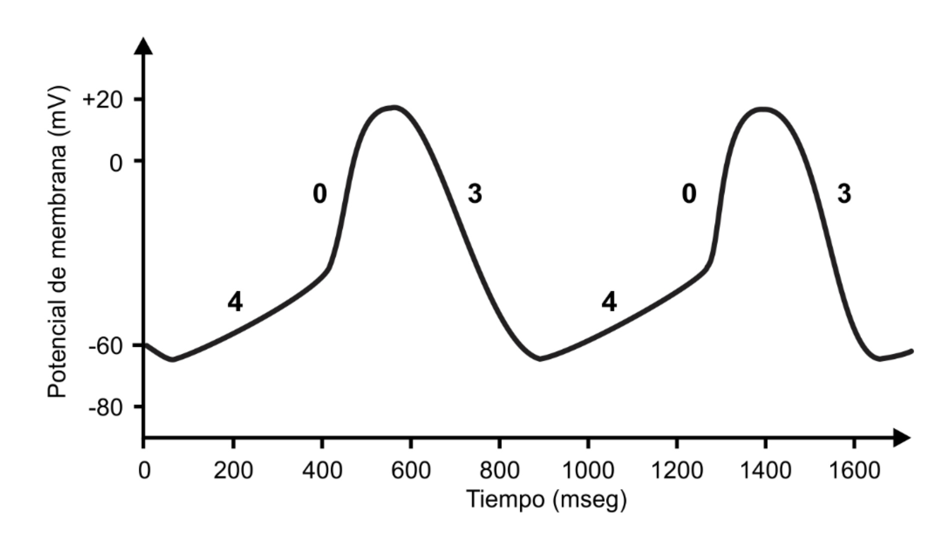


Figura 3.14: Potencial de acción de células marcapaso cardíacas

Como se puede observar en la figura 3.14, en este tipo celular no hay un potencial de membrana en reposo constante. Existe un punto de V_m mínino a partir del cual inicia una fase de despolarización lenta (fase 4) que alcanza un valor de V_m a partir del cual inicia la fase rápida despolarizante (fase 0), luego la membrana se repolariza (fase 3) hasta que el V_m alcanza nuevamente el valor mínimo y desde ese punto se despolariza otra vez lentamente repitiendo el ciclo.

Las células marcapaso cardiacas poseen un tipo de canales catiónicos denominados *funny* que presentan poca selectividad para distinguir entre los cationes Na^+ y K^+. Estos canales son sensibles al voltaje, pero tienen la particularidad de que su probabilidad de apertura es mayor cuando el potencial de la membrana es más negativo, y se cierran cuando la membrana se despolariza. Las células marcapaso además poseen canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje y canales de K^+ sensibles al voltaje que se comportan de manera similar a los descriptos anteriormente en células de músculo cardíaco.

Cuando la membrana se encuentra en su valor de potencial más negativo, la probabilidad de apertura de los canales *funny* es elevada, y generan una corriente entrante despolarizante mayoritariamente de iones Na^+ (porque es el catión monovalente de mayor fuerza impulsora). Esta corriente es responsable de la fase de despolarización lenta del potencial marcapaso. A medida que el V_m se va despolarizando, la Pa de los canales funny va disminuyendo, pero es suficiente

para llevar al V_m hasta un valor al cual la Pa de canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje comienza a aumentar. Esto genera una corriente entrante despolarizante de Ca^{2+} que lleva el V_m rápidamente a potenciales cercanos a +20 mV (fase 0). Esta despolarización aumenta la probabilidad de apertura de canales de K^+, generando una corriente saliente de K^+ hiperpolarizante que, junto con la inactivación de los canales de Ca^{2+}, llevan al V_m hacia valores más negativos. Al alcanzarse un valor suficientemente negativo, los canales de K^+ se cierran y los canales *funny* vuelven a aumentar su Pa, generando nuevamente la corriente catiónica despolarizante, que se repite rítmicamente en la generación de potenciales de acción de estas células.

Estas despolarizaciones que ocurren de manera rítmica en las células marcapaso del corazón, se transmiten a las células de músculo cardiaco y actúan como señal desencadenante de los potenciales de acción en las células musculares cardíacas (ver capítulo 5).

CAPÍTULO 4
Señalización intracelular

Alejandro Rebolledo, Verónica Milesi

4.1 Mecanismos de transducción de señales que involucran a los canales iónicos como proteínas receptoras

4.1.1 Canales iónicos operados por voltaje

4.1.2 Canales iónicos sensibles a estímulos mecánicos

4.1.3 Canales iónicos sensibles a estímulos térmicos

4.1.4 Canales iónicos operados por ligando

4.2 Mecanismos de transducción de señales que involucran cambios en receptores con actividad enzimática propia o que están directamente asociados a enzimas

4.2.1 Receptores con actividad tirosin-quinasa o asociados a proteínas tirosin-quinasas

4.2.2 Receptores con actividad guanilato ciclasa

4.2.3 Mecanismos de transducción de señales que involucran receptores acoplados a proteínas G

4.2.3.1 Canales iónicos activados o inhibidos por proteínas G

4.2.3.2 Enzimas activadas o inhibidas por proteínas G

Adenilato ciclasa

Fosfolipasas

Fosfolipasa C

Fosfolipasa A2

En el proceso de comunicación celular, las señales de diferente naturaleza (química, mecánica, térmica, eléctrica o lumínica) pueden ser detectadas gracias a la presencia de proteínas especializadas cuya función es reconocer de manera específica la señal, dando inicio a un proceso de transducción que permite convertir la señal en una respuesta celular. Estas proteínas en general se denominan receptores y pueden estar ubicados en la membrana plasmática o en el interior celular[14].

En cualquier caso, el proceso de transducción implica la interacción de la señal con la proteína receptora, lo cual induce un cambio conformacional en la proteína que desencadena uno

[14] Los receptores localizados en la membrana celular en general reconocen señales que llegan a la célula desde el medio extracelular y no difunden libremente a través de las membranas celulares. Mientras que los receptores localizados en el citoplasma y en el núcleo reconocen señales que llegan libremente desde el medio extracelular al medio intracelular.

o más eventos intracelulares, que modifican la actividad de la célula. En la figura 4.1 se esquematiza un ejemplo de los cambios conformacionales de una proteína receptora de membrana al interactuar con una señal química y los eventos intracelulares subsiguientes que dicho cambio produce.

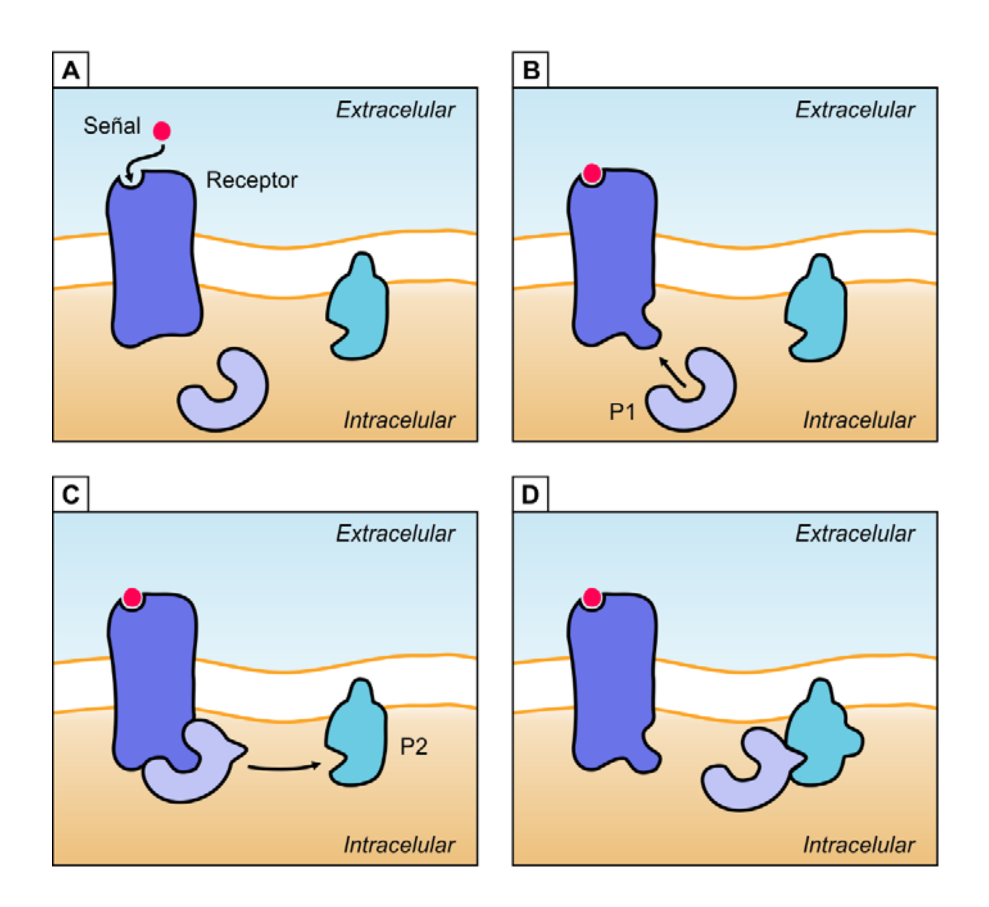


Figura 4.1: (A) Representación esquemática de la interacción entre la molécula señal (esfera roja) con la proteína receptora, en este caso una proteína transmembrana. (B) La interacción de la señal con la proteína receptora induce un cambio conformacional en la proteína receptora que le proporciona un cambio en la afinidad por una segunda proteína P1. (C) La interacción con la segunda proteína modifica la afinidad de esta última por otra proteína P2 (D) que participa de la cascada de eventos celulares que es desencadenada por la llegada de la señal a la célula.

Los eventos celulares que se desencadenan en respuesta a la llegada de la señal no siempre son los mismos y pueden seguir mecanismos de distinta complejidad como los que se describirán a continuación.

4.1. Mecanismos de transducción de señales que involucran a los canales iónicos como proteínas receptoras

En capítulos anteriores vimos que los canales iónicos pueden ser sensibles a distintos tipos de señales, y que éstas pueden inducir un cambio en la función de los mismos como mediadores de flujos de iones. Por lo tanto, cuando la señal interacciona con un canal iónico capaz de

detectarla, se puede producir un aumento o una disminución de su probabilidad de apertura y por lo tanto modificar la intensidad de la corriente iónica que fluye a través del canal. En este caso, la misma estructura celular (el canal iónico) es capaz de recibir la señal (mediante un sitio de afinidad) y, a su vez, transducirla mediante un mecanismo que involucra permitir el paso de una corriente iónica a través del canal. Consecuentemente, la respuesta celular será una variación del V_m.

Una característica importante de los canales iónicos como receptores-transductores de señales es la altísima velocidad de transducción, ya que el cambio en la corriente iónica y su consecuencia sobre el V_m se genera en forma muy veloz, comparado con los tiempos que necesitan otros mecanismos de transducción más complejos.

A continuación describiremos el mecanismo de transducción de distintos tipos de señales en los cuales el receptor es un canal iónico específico y la respuesta celular que se genera es un cambio en el V_m.

4.1.1 Canales iónicos operados por voltaje

Este tipo de canal iónico reconoce como señal a las variaciones del potencial de la membrana (V_m), gracias a que la estructura del canal posee un sitio sensor de voltaje (Figura 4.2). Por lo tanto, cuando la señal es un cambio en el V_m, el canal lo detecta y se produce un cambio conformacional que modifica su probabilidad de apertura (Pa). Este cambio en la Pa del canal, como vimos en el capítulo 2, genera un cambio en una corriente iónica, que modificará el V_m como respuesta a la señal. Por lo tanto, en este caso, la señal es un cambio en el V_m y la respuesta será una variación adicional del mismo. Un ejemplo típico de este tipo de señalización es la generación de un potencial de acción como el descripto en el capítulo 2.

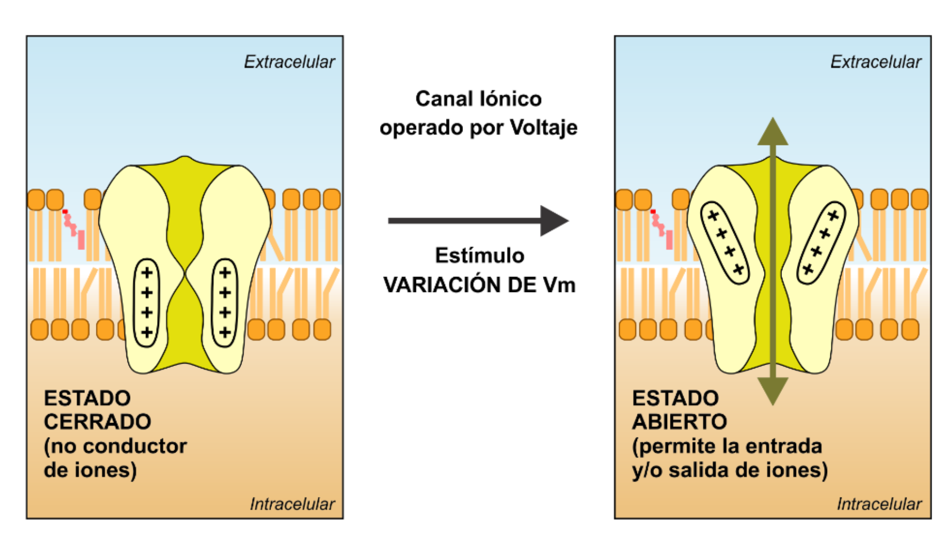


Figura 4.2: Representación esquemática de un canal iónico operado por voltaje donde se observa la presencia, en la estructura del canal, de regiones cargadas positivamente ("sensor de voltaje") que le otorgan la capacidad de reconocer señales de naturaleza eléctrica dadas por cambios en el potencial de la membrana (V_m). Un cambio en el V_m produce un cambio conformacional que modifica la probabilidad de encontrar al canal en el estado abierto (Pa).

Este mecanismo de transducción le permite a la célula responder rápidamente a cambios en el potencial de su membrana celular. Lo más común es que este tipo de canales aumenten su Pa (en otras palabras *se activen*) frente a una despolarización de la membrana (cuando el V_m se vuelve menos negativo), pero también hay ejemplos en los que la Pa del canal aumenta cuando la membrana se hiperpolariza (cuando el V_m se vuelve más negativo). Por último, también hay que tener presente que si el canal tiene un valor de Pa distinto de cero en condiciones de reposo, la señal podría provocar una disminución de la Pa (o inhibición del canal) lo cual, como en todos los casos, tendrá como respuesta una variación del V_m (porque la disminución de una corriente existente, como se vio anteriormente, produce una variación del V_m).

La señal eléctrica que reciben estos canales puede provenir básicamente de:

- Una variación del V_m inducida por una corriente eléctrica que llega a la célula a partir de células vecinas: por ejemplo cuando una célula se despolariza, puede despolarizar a otras células que estén conectadas con ella a través de complejos proteicos de unión que dejen pasar iones (recordemos que un ion que se mueve genera una corriente eléctrica). Un ejemplo típico es la despolarización del miocardio.
- Un cambio en el V_m generado en una sinapsis (un potencial postsináptico) cercano a la zona en donde está el canal sensible al voltaje. Ejemplo de esto sería la generación del potencial de acción en las fibras del músculo esquelético cuando se produce el potencial postsináptico en el sitio de la sinapsis neuromuscular.
- Un cambio en el V_m generado en una célula sensorial (un potencial de receptor) cercano a la zona en donde está el canal sensible al voltaje. Ejemplo de esto sería la generación de un potencial de acción en el axón de una neurona pseudomonopolar cuando se produce un potencial de receptor en su terminal periférica.
- Un cambio en el V_m debido a una corriente de tipo electrotónica que circule por el líquido intracelular y que provenga de zonas de la célula más alejadas del canal, como el caso de la integración en el cono axónico de una neurona de corrientes provenientes de las dendritas que pueden disparar un potencial de acción.

4.1.2 Canales iónicos sensibles a estímulos mecánicos

Este tipo de canal iónico reconoce señales de naturaleza mecánica, dados por cambios en el estiramiento de la membrana celular (Figura 4.3). Hay varios mecanismos por los cuales estos canales pueden ser sensibles a este tipo de señal. Por ejemplo, pueden estar ligados directa o indirectamente (por enlaces químicos u otro tipo de fuerzas de interacción) a proteínas del citoesqueleto o de la matriz extracelular. Así, si la membrana de la célula se deforma por la acción de una fuerza mecánica, cambiará la posición relativa del canal con respecto a las proteínas intra o extracelulares a las que se asocia y esto conducirá a una tracción (o a una disminución de la tracción) sobre el canal, que cambia su proba-

bilidad de apertura (Pa). También se han propuesto alteraciones o cambios en el entorno lipídico que rodea al canal, producto de la deformación de la membrana, como un posible mecanismo de sensibilidad del canal al estiramiento de la membrana.

Por lo tanto, cuando el canal detecta la señal mecánica, se produce un cambio conformacional que modifica su Pa, permitiendo el paso de una corriente iónica que modifica el V_m de la célula. Este mecanismo de transducción le permite a la célula responder rápidamente a cambios en el estiramiento de la membrana plasmática generando un cambio en el V_m como respuesta.

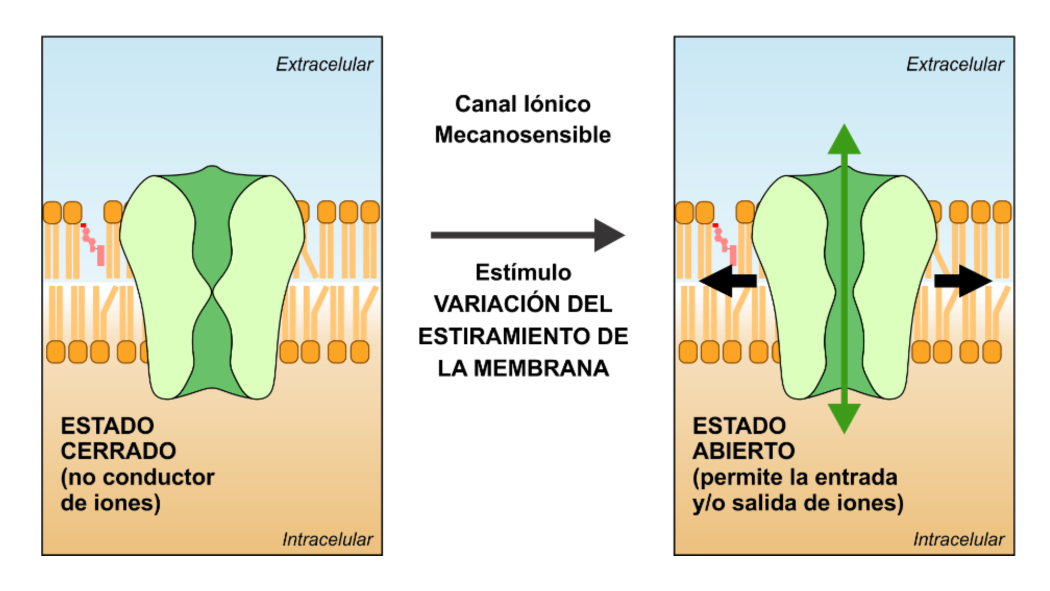


Figura 4.3: Representación esquemática de un canal iónico sensible al estiramiento de la membrana. La estructura de este tipo de canal le otorga la capacidad de reconocer señales de naturaleza mecánica dadas por cambios en el grado de estiramiento de la membrana celular. Un cambio en el estiramiento de la membrana produce un cambio conformacional que modifica la probabilidad de encontrar al canal en el estado abierto (Pa).

Existen numerosos ejemplos fisiológicos de este tipo de señalización, cada uno de ellos con sus particularidades. Un ejemplo típico es la generación del potencial de receptor en las terminales de las neuronas sensitivas cutáneas del tacto, la vibración y otras variantes de sensibilidad cutánea a la interacción con fuerzas externas. Otro ejemplo, lo constituyen los canales iónicos sensibles al estiramiento localizados en las células ciliadas del órgano de Corti en el oído interno, especializadas en la transducción de la presión de las ondas de sonido en variaciones del V_m. Los osmorreceptores hipotalámicos son células en donde las fuerzas mecánicas que producen la activación de canales sensibles a estímulos mecánicos son generadas por cambios en el volumen de la célula, producto de flujos osmóticos de agua entre el medio intracelular y el medio extracelular.

4.1.3 Canales iónicos sensibles a estímulos térmicos

Este tipo de canal iónico reconoce estímulos de naturaleza térmica (con una sensibilidad mayor a la que posee por su naturaleza proteica). Un cambio en la temperatura en el rango de

sensibilidad del canal induce un cambio en su probabilidad de apertura (Pa). Por lo tanto, cuando el canal detecta la señal térmica se produce un cambio conformacional que modifica su Pa, permitiendo el paso de una corriente iónica que modifica el V_m de la célula (Figura 4.4). Este mecanismo de transducción le permite a la célula responder rápidamente a cambios en la temperatura generando un cambio en el V_m como respuesta específica.

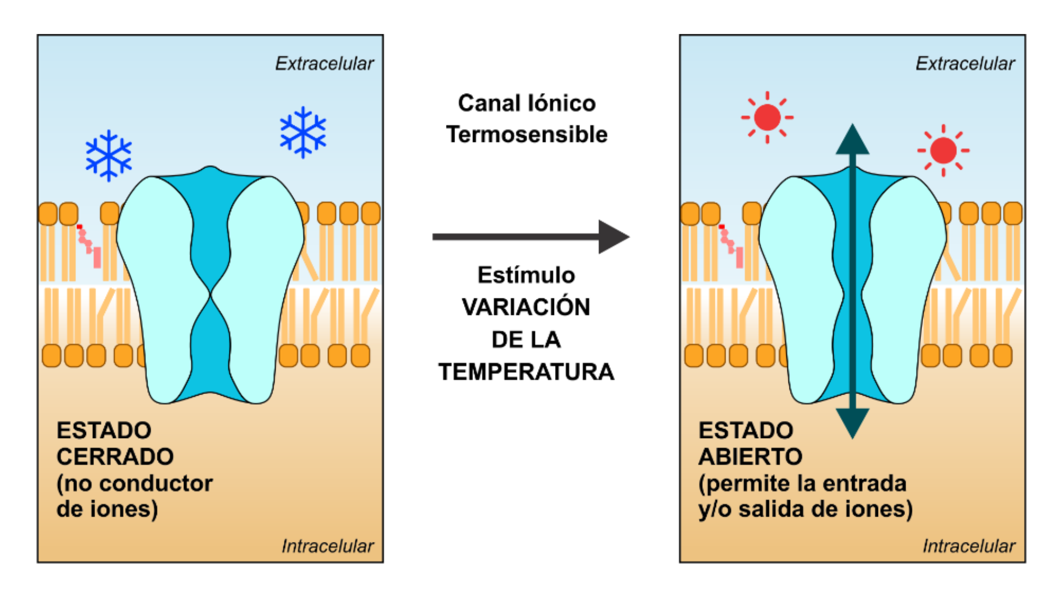


Figura 4.4: Representación esquemática de un canal iónico sensible a la temperatura. La estructura de este tipo de canal le otorga la capacidad de reconocer señales de naturaleza térmica dadas por cambios en la temperatura del entorno del canal. Un cambio en la temperatura produce un cambio conformacional que modifica la probabilidad de encontrar al canal en el estado abierto (Pa).

4.1.4 Canales iónicos operados por ligando

Este tipo de canal iónico reconoce estímulos de naturaleza química (Figura 4.5). Son capaces de detectar una determinada sustancia o ligando gracias a la presencia en su estructura de un sitio de afinidad a través del cual interaccionan. La unión del ligando a este sitio genera un cambio conformacional del canal que se transduce en un cambio en su probabilidad de apertura (Pa). Este cambio en la Pa del canal, permite el paso de una corriente iónica que modifica el V_m. Este mecanismo de transducción le permite a la célula responder rápidamente a cambios en la concentración de una sustancia en la proximidad del canal generando un cambio en el V_m como respuesta.

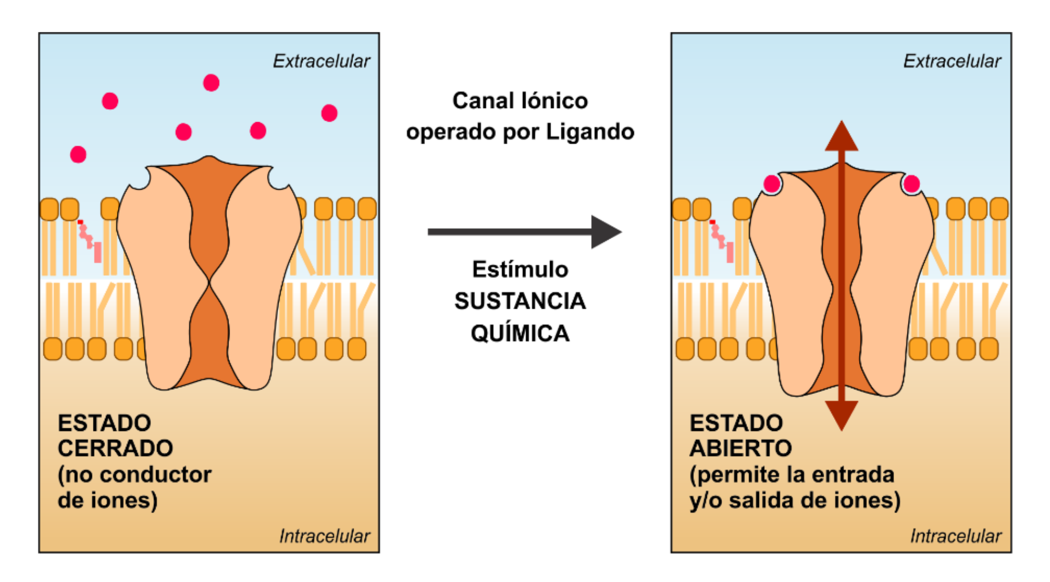


Figura 4.5: Representación esquemática de un canal iónico operado por ligando. La presencia en su estructura de un sitio de afinidad por el ligando le otorga la capacidad de reconocer señales de naturaleza química dadas por cambios en la concentración del ligando en el entorno del canal. Un cambio en la concentración de una determinada sustancia afín al canal produce un cambio conformacional que modifica la probabilidad de encontrar al canal en el estado abierto (Pa).

Hay numerosos ejemplos de canales operados por ligando de gran relevancia fisiológica, entre ellos los denominados **receptores ionotrópicos** (proteínas canal iónico localizados en la membrana celular que poseen un sitio de afinidad por un ligando). Por ejemplo el receptor nicotínico de acetilcolina (canal catiónico inespecífico), los receptores de ácido γ-aminobutírico (GABA, canales de Cl^-), el receptor de Glicina (canal de Cl^-), varios tipos de receptores de glutamato (canales catiónicos inespecíficos) entre otros.

También hay varios tipos de canales iónicos localizados en organelas intracelulares operados por ligandos provenientes del medio intracelular o intraorganela.

4.2. Mecanismos de transducción de señales que involucran cambios en receptores con actividad enzimática propia o que están directamente asociados a enzimas

Los receptores **con actividad enzimática propia** tienen la capacidad de reconocer la señal mediante la interacción específica con un sitio de afinidad, generando como respuesta un cambio en la actividad enzimática que posee la misma proteína receptora.

Los receptores **asociados a proteínas con actividad enzimática** tienen la capacidad de reconocer la señal mediante la interacción específica con un sitio de afinidad, siendo la proteína asociada al receptor la que genera la respuesta gracias a un cambio en su actividad enzimática.

Estos receptores pueden tener diferentes propiedades enzimáticas como las que se describen a continuación:

4.2.1 Receptores con actividad tirosin-quinasa o asociados a proteínas tirosin-quinasas

Los receptores con actividad tirosin-quinasa son capaces de reconocer una determinada sustancia química o ligando gracias a la presencia en su estructura de un sitio de afinidad a través del cual interaccionan. La unión del ligando a este sitio genera un cambio conformacional del receptor que puede transducirse en un proceso de autofosforilación (se fosforilan sitios tirosina específicos de la propia proteína receptora) o en la activación de otras proteínas tirosin-quinasas asociadas no covalentemente al receptor. Cualquiera sea el mecanismo, la fosforilación de proteínas substrato de estas quinasas determina una cascada de eventos intracelulares que generan una respuesta celular.

4.2.2 Receptores con actividad guanilato ciclasa

Los receptores con actividad guanilato ciclasa (GC) son capaces de reconocer una determinada sustancia química o ligando gracias a la presencia en su estructura de un sitio de afinidad a través del cual interaccionan. La unión del ligando a este sitio genera un cambio conformacional del receptor que se transduce en un proceso de producción de un segundo mensajero, el GMPc (guanosín monofosfato cíclico o GMP cíclico) tomando como substrato el GTP (guanosín 5´-trifosfato). Por lo tanto, cuando el receptor reconoce al ligando se producen cambios en su actividad enzimática que modifican la concentración del GMPc, ya que su función es sintetizar este compuesto a partir del GTP.

El GMPc es soluble y su concentración intracelular es variable en función del estado celular. De manera que una activación del receptor-enzima aumentará la concentración intracelular de GMPc generando una señal que amplifica la intensidad de la señal recibida, y la inhibición de la enzima disminuirá su concentración. El GMPc, por sí mismo, puede modificar la actividad de otras proteínas intracelulares y/o activar enzimas quinasas afines por esta molécula, denominadas PKG (proteínas quinasas dependientes de GMPc) las cuales, fosforilan otras proteínas involucradas en las respuestas que induce la señal.

Por otro lado, el GMPc es substrato de enzimas intracelulares denominadas **fosfodiesterasas**, que tienen la capacidad de hidrolizar al GMPc generando 5'GMP, que ya no tiene la capacidad de activar los mismos pasos de señalización que el GMPc. Por lo tanto la concentración intracelular de GMPc en cada momento será la resultante del balance entre la actividad de estas dos enzimas: guanilato ciclasa que lo produce y fosfodiesterasa que lo degrada.

La actividad de las enzimas quinasas dependientes de GMPc cambiará en función de la concentración de este segundo mensajero, determinando el grado de fosforilación de proteínas blanco a las cuales les cambiará sus propiedades: por ejemplo, si son enzimas, les puede aumentar o disminuir su actividad, cada proteína reaccionará siempre de una misma forma; si son canales iónicos, puede ser que la fosforilación aumente (o disminuya) su pro-

babilidad de apertura, etc. De esta forma, estas proteínas fosforiladas serán las que cambiarán la actividad de los procesos celulares generando la respuesta de la célula a la unión del ligando a su receptor.

Por ejemplo, la hormona Péptido Natriurético Atrial (PNA), sintetizada en la aurícula derecha cardiaca, interacciona con un receptor de membrana que posee actividad guanilato ciclasa ejerciendo así su acción sobre sus células blanco.

4.2.3 Mecanismos de transducción de señales que involucran receptores acoplados a proteínas G

Las células también tienen receptores que actúan mediante mecanismos de transducción más complejos que involucran varias proteínas distintas que se comunican entre sí para generar la transducción de la señal y la generación de una respuesta. Uno de estos tipos de sistemas consiste en los receptores acoplados a proteínas G (Figura 4.6).

Este mecanismo involucra:

- **Una proteína de transmembrana que actúa como receptor de la señal** que proviene del medio extracelular y que, salvo algunas pocas excepciones, es generalmente un ligando por el cual el receptor es afín. Cuando el ligando alcanza una concentración para la cual es capaz de interaccionar de manera sostenida con el sitio de afinidad, activa al receptor induciendo en éste un cambio conformacional.
- **La proteína G**, una proteína trimérica de membrana que se encuentra anclada a la cara intracelular de la membrana y asociada al receptor, se activa cuando el receptor cambia su conformación por acción del ligando.
- **Una tercera proteína de membrana, que denominamos genéricamente proteína efectora**, que será activada o inhibida por interacción con la proteína G activada. La identidad de esta tercera proteína es diversa, y puede ser una de varias enzimas posibles o también un canal iónico.

La proteína G (que puede ser de diferente subtipo) y la proteína efectora, entonces, son parte del mecanismo de transducción de la señal extracelular recibida por el receptor de membrana. La respuesta que se produce ante la señal es diversa, y depende de cuál sea la proteína efectora y de cuáles sean los procesos celulares que la activación de esta proteína efectora desencadene.

A pesar de las grandes diferencias en sus secuencias primarias, sobre todo en los sitios de unión a los ligandos, los receptores acoplados a proteínas G tienen similitudes estructurales: la zona del receptor que atraviesa la membrana consiste en 7 hélices alfa de transmembrana que forman un núcleo central. El sitio de unión al ligando siempre se expone hacia el medio extracelular, espacio del cual proviene la señal química reconocida por el receptor. Por otro lado, el sitio de interacción con la proteína G siempre se orienta hacia el interior de la célula (Figura 4.6).

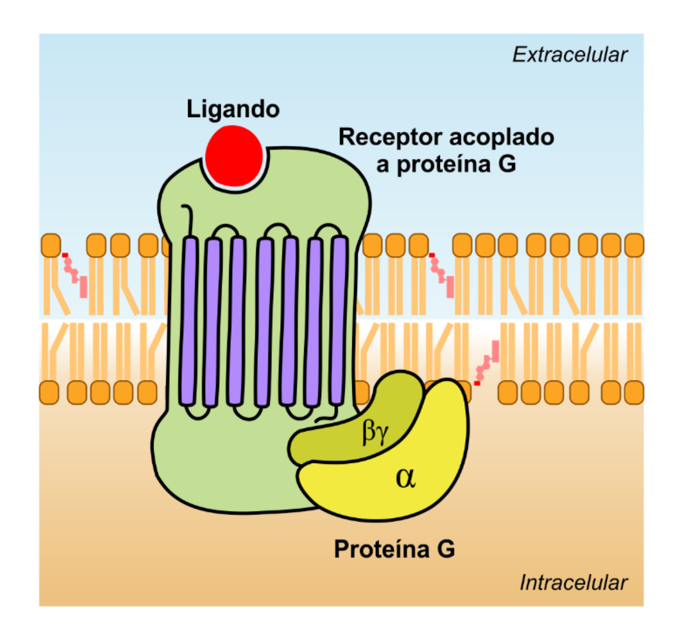


Figura 4.6: Representación esquemática de un receptor acoplado a proteína G: La proteína de transmembrana actúa como receptor de la señal (ligando extracelular) y se asocia a una proteína G trimérica, anclada a la cara intracelular de la membrana. La proteína G se activa cuando el receptor cambia su conformación por acción del ligando.

Las proteínas G son proteínas de membrana de tipo periféricas. No atraviesan la membrana como lo hace el receptor, sino que están ligadas a la cara intracelular de la membrana por medio de una porción hidrofóbica. La otra característica clave es que tienen movilidad, y pueden desplazarse entre el receptor y la proteína efectora de membrana encargada de continuar la transducción de la señal.

Las proteínas G están formadas por 3 subunidades, la alfa, la beta y la gamma (la interacción entre estas dos últimas es tan fuerte que funcionalmente se comportan como si fueran una sola subunidad beta-gama). La subunidad alfa posee un sitio de afinidad por los nucleótidos de guanosina GDP (guanosín difosfato) y GTP. Cuando la proteína G está inactiva tiene mayor afinidad por el GDP y cuando se activa (porque el receptor se activó) aumenta su afinidad por el GTP produciendose así el intercambio de GDP por GTP. A su vez, este mismo sitio tiene capacidad de hidrolizar GTP a GDP y fosfato, o sea que la subunidad alfa también se puede considerar como una enzima GTPasa.

Podemos **resumir** el ciclo de funcionamiento de las proteínas G en el mecanismo de transducción de la señal, iniciada por la unión del ligando al receptor, de la siguiente manera:

1. En su forma inactiva, todas las subunidades de la proteína G están juntas y la subunidad alfa está unida a GDP, ya que en el estado inactivo posee mayor afinidad por el GDP respecto del GTP.
2. Cuando la proteína G interactúa con un receptor que se activó mediante la interacción con su ligando específico, la proteína G se activa y aumenta su afinidad por el GTP respecto del GDP (figuras 4.7A y 4.7B).
3. La activación de la proteína G involucra también la separación de la subunidad alfa de la subunidad beta-gamma. Ahora, las dos subunidades pueden desplazarse por la cara in-

terna de la membrana en forma independiente una de otra. Esta es la forma activa de las dos subunidades.

4. Las dos subunidades por separado tienen la capacidad de interactuar en forma específica con ciertas proteínas de membrana efectoras (después las clasificaremos). La interacción de alguna de las subunidades de la proteína G con la proteína efectora causa la activación de la proteína efectora continuando la transducción de la señal y generando la respuesta celular (figura 4.7C).
5. Un tiempo después de haber sido activada, la subunidad alfa hidroliza el GTP que tenía unido, de forma que ahora el sitio activo queda unido a GDP, mientras que el fosfato inorgánico se libera hacia el líquido intracelular. Cuando esto ocurre, la subunidad alfa de la proteína G se separa de la proteína efectora, y vuelve a unirse con la subunidad beta gama (figura 4.7D).
6. Cuando la proteína G vuelve a estar en la forma donde las tres subunidades están unidas entre sí, deja de activar a la proteína efectora, pero puede volver a interactuar con el receptor. Si el receptor ya no está estimulado por la señal extracelular, el sistema queda inactivo y se deja de transducir la señal; pero si la proteína G inactiva encuentra al receptor todavía activo, vuelve a realizar todos los pasos descriptos desde el punto 2 y comienza otro ciclo de transducción de la señal.

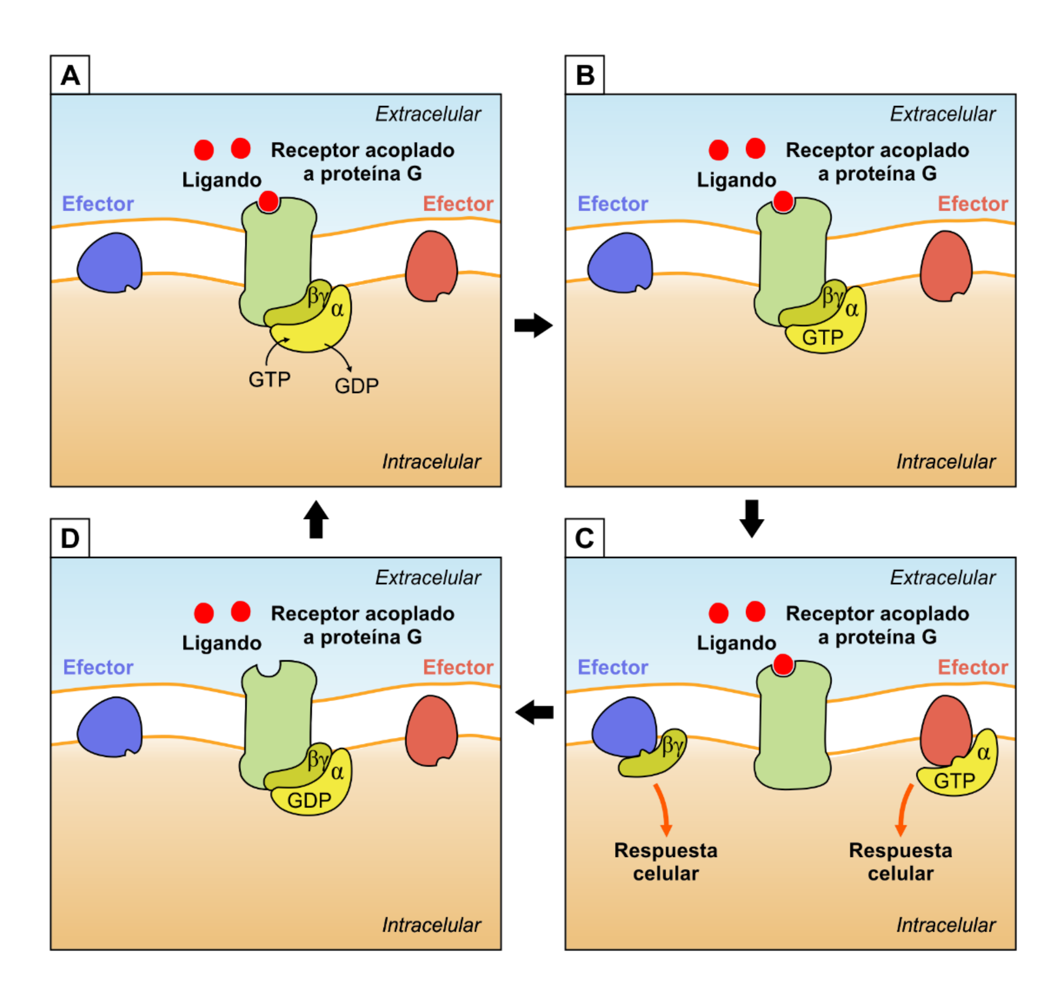


Figura 4.7: Representación esquemática del mecanismo de acción de la proteína G. (ver explicación en el texto)

El repertorio de proteínas efectoras cuya actividad puede ser modificada por las proteínas G (activadas o inhibidas) es muy variado, pero se pueden clasificar en dos grupos principales: pueden ser canales iónicos o enzimas. A su vez, las enzimas efectoras pueden generar moléculas que pueden actuar como señales intracelulares denominadas segundos mensajeros.

4.2.3.1 Canales iónicos activados o inhibidos por proteínas G

La unión del ligando a su receptor (acoplado a proteína G) activa a la proteína G. Se separan las subunidades de la proteína G y éstas migran por la membrana hasta interactuar, en forma específica, con algún canal iónico (que tenga la capacidad de interactuar con una proteína G). Esta interacción cambia la Pa del canal, generando una corriente iónica que modificará el valor de V_m como respuesta. Esta respuesta será una despolarización o una hiperpolarización dependiendo de la identidad del canal iónico y del cambio que sufra en su Pa (aumento o disminución) (Figura 4.8).

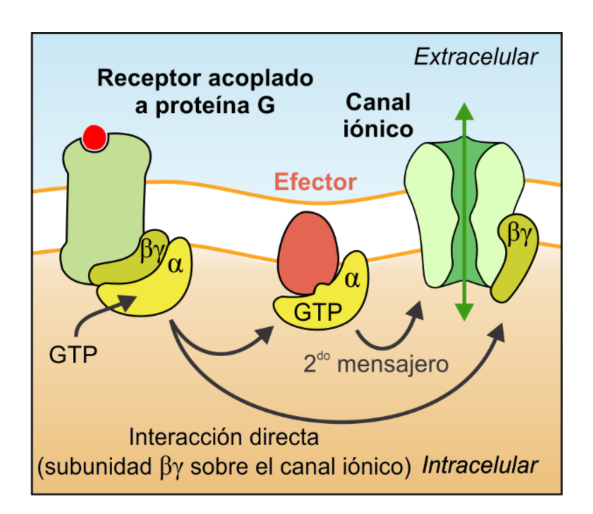


Figura 4.8: Representación esquemática de un receptor acoplado a proteína G en el cual la proteína efectora es un canal iónico. El canal, mediante la interacción directa con la proteína G o con un efector intermediario (2do mensajero o efectores regulados por el 2do mensajero), cambiará su actividad cuando el receptor se active por acción del ligando.

Un ejemplo de este mecanismo corresponde a la activación del canal de K^+ dependiente de acetilcolina (K_{ACh}) que se encuentra en las células del nodo sinoauricular del corazón. Este nodo está inervado por el sistema nervioso autónomo simpático y parasimpático. Las neuronas postganglionares de la división parasimpática liberan acetilcolina, que activa sus receptores de membrana ligados a proteína G. La subunidad beta-gama de la proteína G puede interactuar con el canal K_{ACh} y producir la activación de una corriente de K^+ que genera como respuesta una hiperpolarización de la membrana y una consecuente disminución de la frecuencia de disparo de potenciales de acción de las células del nodo y, por ende, una disminución de la frecuencia cardíaca.

4.2.3.2 Enzimas activadas o inhibidas por proteínas G

La unión del ligando a su receptor (acoplado a proteína G) activa a la proteína G. Se separan las subunidades de la proteína G y éstas migran por la membrana hasta interactuar, en forma específica, con alguna enzima efectora. Esta interacción cambia la actividad de dicha enzima, generando cambios en las concentraciones de sus substratos y productos. Estos productos de las enzimas de membrana son solubles y difunden hacia el interior de la célula y se los conoce colectivamente con el nombre de **segundos mensajeros** (AMPc, GMPc, IP3, DAG entre otros que describiremos a continuación) los cuales participan de manera más o menos compleja en la respuesta celular a la señal recibida (se toma como “primer mensajero” a la señal que activa al receptor de membrana).

Adenilato Ciclasa:

Cuando la enzima efectora, activada o inhibida por la proteína G, es la enzima adenilato ciclasa (también llamada adenilil ciclasa, abreviada AC), se producen cambios en la concentración del adenosín monofosfato cíclico (AMP cíclico o AMPc) ya que su función es sintetizar este compuesto tomando al ATP como substrato (Figura 4.9).

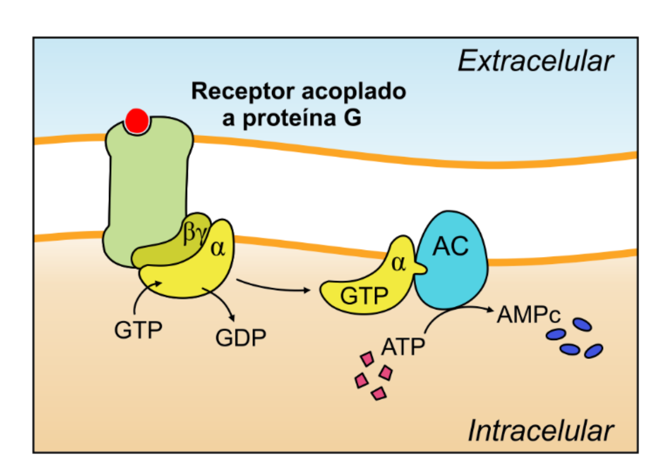


Figura 4.9: Representación esquemática de un receptor acoplado a proteína G donde la proteína efectora es una enzima, la adenilato ciclasa (AC). La AC, mediante la interacción directa con la subunidad alfa de la proteína G, cambiará su actividad (producción de AMPc) cuando el receptor se active por la acción del ligando

El AMPc es soluble y su concentración intracelular es variable en función del estado celular. De manera que una activación de la enzima efectora AC aumentará su concentración intracelular amplificando la señal generada por la activación del receptor por el ligando, y la inhibición de la enzima disminuirá su concentración.

Además el AMPc es substrato de enzimas intracelulares denominadas **fosfodiesterasas**, que tienen la capacidad de hidrolizarlo generando 5’AMP, que ya no tiene la capacidad de activar los mismos pasos de señalización que el AMPc. Por lo tanto la concentración intracelular

de AMPc en cada momento será la resultante del balance entre la actividad de las enzimas adenilato ciclasa y fosfodiesterasa (Figura 4.10).

Figura 4.10: Representación esquemática de los procesos enzimáticos que regulan la concentración de AMPc: la enzima adenilato ciclasa sintetiza AMPc y la enzima fosfodiesterasa degrada AMPc.

El AMPc, a su vez, tiene la capacidad de activar enzimas quinasas intracelulares afines por esta molécula, denominadas proteínas quinasas dependientes de AMPc (PKA). Estas enzimas son proteínas formadas por cuatro subunidades, dos de ellas son catalíticas (son las que poseen la actividad quinasa) y dos de ellas son de tipo regulatorio.

Cuando las concentraciones de AMPc son bajas, las cuatro subunidades de la PKA están unidas entre sí y la enzima no tiene actividad. Cuando aumenta la concentración del AMPc en el medio intracelular, cada subunidad regulatoria de la PKA une dos moléculas de este segundo mensajero, lo que lleva a que las dos subunidades catalíticas se separen de las regulatorias. Las subunidades catalíticas, al separarse de las regulatorias, se activan y comienzan a fosforilar distintas proteínas (proteínas blanco) en sitios específicos (una secuencia particular de aminoácidos) llamados sitios de consenso o de fosforilación por PKA (Figura 4.11).

La unión de grupos fosfato a estos sitios altera la conformación de las proteínas blanco y les cambia sus propiedades: por ejemplo, si son enzimas, las puede activar o las puede inhibir (cada enzima reaccionará siempre de una misma forma); si son canales iónicos, puede ser que la fosforilación aumente o disminuya su probabilidad de apertura (cada canal reaccionará siempre de una misma forma), etc. Así, las proteínas fosforiladas cambiarán la actividad de los procesos celulares, generando una respuesta celular a la unión del ligando a su receptor.

Los grupos fosfato unidos a las proteínas blanco de PKA son removidos (la proteína es desfosforilada) por enzimas **fosfatasas**, de forma que cuando la concentración de AMPc disminuye, y la actividad de PKA baja, haciéndose menor que la actividad de las fosfatasas, el balance es hacia la desfosforilación y la desactivación de los procesos activados por PKA.

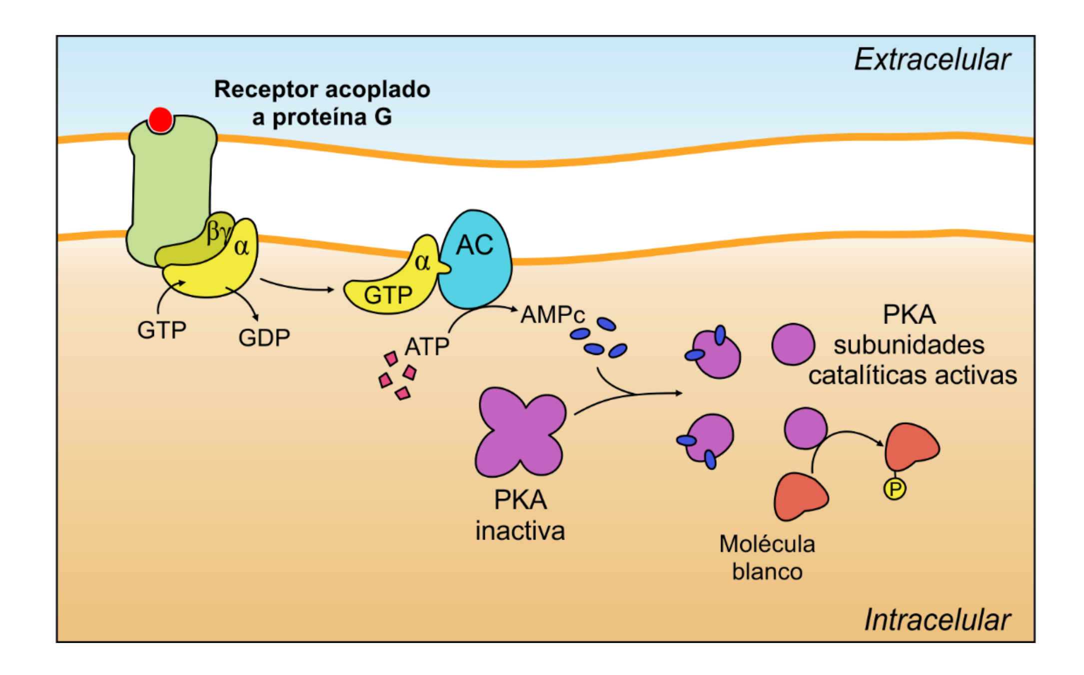


Figura 4.11: Representación esquemática del rol de la proteínas quinasas dependientes de AMPc (PKA), que modifican su actividad fosforilativa en función de la concentración de AMPc intracelular, generado a su vez por la AC activada por la proteína G. Cuando aumenta la concentración del AMPc, cada subunidad regulatoria de la PKA une dos moléculas de este segundo mensajero, induciendo su separación de las dos subunidades catalíticas, que van a fosforilar distintas proteínas blanco en sitios específicos.

La vía de señalización que involucra al AMPc puede producir respuestas en la célula tanto si aumenta como si disminuye su concentración. En esencia, la concentración de AMPc que haya en la célula momento a momento, dependerá del grado de actividad de la adenilato ciclasa y las fosfodiesterasas. Estas enzimas tienen una cierta actividad basal (aunque no hayan sido activadas por un receptor), lo que determina que haya una cantidad basal de AMPc en la célula. Cuando la adenilato ciclasa es activada por una proteína G pero la fosfodiesterasa no, la síntesis de AMPc se incrementa, y su concentración aumenta, con la consiguiente activación de la PKA. Cuando la adenilato ciclasa deja de estar estimulada, su actividad de síntesis disminuye, y la fosfodiesterasa reduce la concentración de AMPc “apagando” la señal. Las fosfodiesterasas también pueden ser reguladas por receptores, de forma que si ésta se activa, la concentración de AMPc bajará, lo cual también pude considerarse una señal para la célula, ya que la actividad de la PKA va a disminuir, así como también se inhibirán los procesos que esta quinasa activa.

Hasta aquí hemos discutido la activación de la adenilato ciclasa por una proteína G, que se denomina Gs (por “estimulatoria”, *stimulatory* en inglés), pero la adenilato ciclasa también puede ser blanco de otro tipo de proteína G que produzca su inhibición, a la que se denomina Gi (por “inhibitoria”). De esta forma, se puede plantear un escenario de “competencia” entre dos receptores distintos: un receptor, acoplado a Gs, tiende a aumentar la actividad de la adenilato ciclasa e incrementar la concentración del AMPc, mientras que otro receptor, acoplado a Gi, puede inhibir a la enzima y así disminuir (o impedir que aumente) la concentración del segundo

mensajero (Figura 4.12). El resultado final dependerá de cuál sea el grado de activación relativo de cada uno de estos dos tipos de receptores acoplados a proteína G.

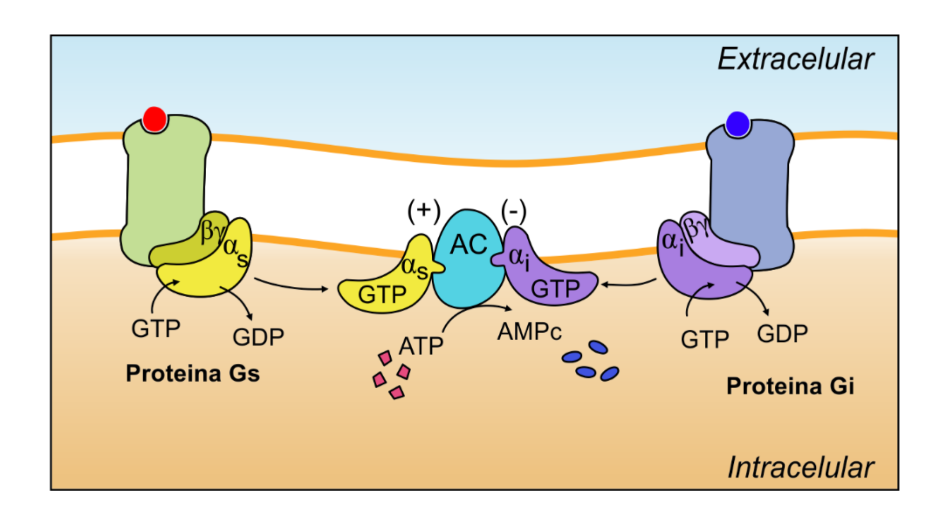


Figura 4.12: Representación esquemática de la modulación de la actividad de la adenilato ciclasa por distintos tipos de proteína G (Gs estimulatoria o Gi inhibitoria). Un receptor acoplado a Gs, cuando recibe la señal de su ligando, activa a la adenilato ciclasa e incrementa la concentración del AMPc, mientras que otro receptor acoplado a Gi, cuando recibe la señal de su ligando inhibe a la AC y disminuye (o impide que aumente) la concentración de AMPc.

Este mecanismo está ejemplificado en la regulación de la frecuencia cardíaca por parte del sistema nervioso autónomo (SNA). El neurotransmisor de la división simpática del SNA, la noradrenalina, activa receptores de membrana ligados a Gs que producen activación de la AC y aumento de la concentración del AMPc en las células del nódulo sinoauricular del corazón, lo que genera un aumento de la frecuencia cardíaca. En cambio, la acetilcolina, neurotransmisor parasimpático, interactúa con receptores de membrana ligados a Gi que inhiben la AC y bajan la concentración del AMPc, lo que deprime al nodo y baja la frecuencia cardíaca[15]. Como normalmente las dos divisiones del SNA están actuando simultáneamente sobre el corazón, el resultado final dependerá de cuál de las dos predomina: si hay más actividad simpática que parasimpática habrá más activación (por Gs) que inhibición (por Gi) de la adenilato ciclasa, con aumento de la concentración del AMPc e incremento de la frecuencia cardíaca. Si por el contrario, predomina la actividad parasimpática, se dará el escenario inverso, con disminución de la frecuencia de latido del corazón.

Fosfolipasas

Cuando la enzima efectora, activada o inhibida por la proteína G, es una enzima fosfolipasa (abreviada PL del inglés *phospholipase*) se producen cambios en la concentración de moléculas derivadas de fosfolípidos de membrana (segundos mensajeros). La identidad química de estos mensajeros es variada, ya que a partir de un fosfolípido se pueden producir tres clases de moléculas señalizadoras:

[15] El sistema parasimpático, a través de los receptores de acetilcolina, tiene otros mecanismos adicionales para bajar la frecuencia cardíaca además de la inhibición de la adenilato ciclasa, que no se discuten en este ejemplo.

- Un ácido graso (uno de los dos que se encuentran esterificados al glicerol).
- Un diglicérido, producto de hidrolizar el enlace entre el glicerol y la porción de la molécula con los grupos fosfato.
- Una molécula soluble con grupos fosfato, el segundo producto del caso anterior.

Fosfolipasa C

Cuando la enzima efectora activada por la proteína G, es la enzima fosfolipasa C (abreviada PLC) se producen cambios en la concentración de dos moléculas: el azúcar fosforilado 1,4,5-inositol trifosfato (IP_3 o $InsP_3$) y un diglicérido conocido como diacilglicerol (DAG). A la proteína G que activa a la PLC se le denomina proteína Gq. La PLC toma como sustrato un fosfolípido de membrana llamado fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP_2), generando mediante su hidrólisis IP3 y DAG (Figura 4.14).

Tanto el IP_3 como el DAG son segundos mensajeros, de manera que a partir de este punto hay una bifurcación en la ruta, con dos mecanismos distintos que median las respuestas de la célula.

- **El DAG**, conserva los restos de ácidos grasos esterificados al glicerol, es una molécula con una porción hidrofóbica y queda ligada a la membrana plasmática, pero tiene movilidad. Entonces, el DAG difunde y puede interactuar con proteínas de membrana como un segundo mensajero. El principal blanco del DAG es una enzima quinasa denominada **proteína quinasa C** (PKC). La PKC tiene la capacidad de fosforilar diversas proteínas que en cada caso, participarán de la respuesta que genera la célula al recibir la señal.

- El **IP_3** es una molécula soluble, que abandona la membrana y difunde hasta el retículo endoplásmico, en donde interactúa con una proteína que se encuentra en la membrana de este organoide y que actúa como su receptor. El receptor de IP_3 es un canal iónico selectivo al Ca^{2+} operado por ligando (el ligando en este caso es el IP_3). La unión del IP_3 a este canal aumenta su probabilidad de apertura, generando un flujo de calcio desde el retículo hacia el citosol que produce el aumento de la concentración citosólica de este ion. Recordemos que el retículo sarcoplásmico es un organoide intracelular que tiene la capacidad de almacenar Ca^{2+} y que generalmente el Ca^{2+} se encuentra en el citosol a baja concentración, por lo tanto el gradiente de Ca^{2+} entre el retículo y el citosol es siempre favorable a la salida de Ca^{2+} desde el retículo hacia el citosol. El aumento del Ca^{2+} citosólico a su vez puede generar múltiples y variadas respuestas celulares, entre ellas tiene la capacidad de activar la proteína quinasa C (PKC) la cual, como dijimos anteriormente, fosforila otras proteínas blanco involucradas en la respuesta celular.

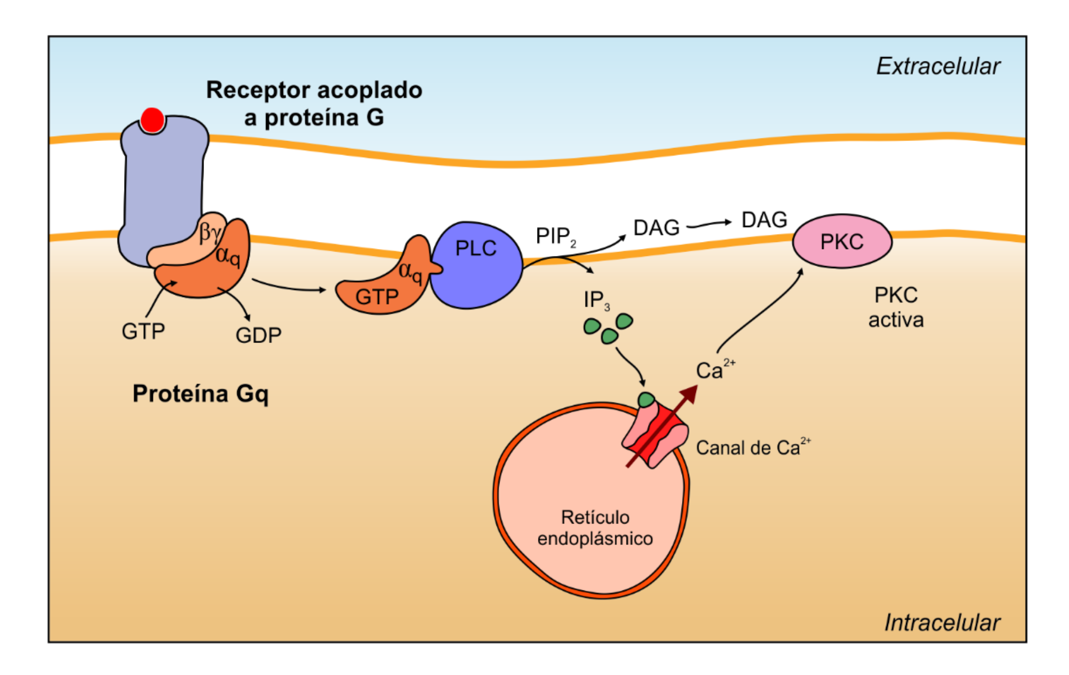


Figura 4.13: Representación esquemática de un receptor acoplado a proteína G donde la proteína efectora es una enzima, la fosfolipasa C (PLC). La PLC, mediante la interacción directa con la proteína G, cambiará su actividad (producción de los segundos mensajeros IP_3 y DAG) cuando el receptor se active por la acción del ligando. Se representa también el rol de los segundos mensajeros generados, en la modulación de otras proteínas. En particular, el IP_3 interacciona con su receptor localizado en la membrana del retículo endoplásmico e induce la salida de Ca^{2+} desde el organoide hacia el citosol, y el DAG junto al calcio activan proteínas quinasas dependientes de DAG (PKC).

Fosfolipasa A2

Cuando la enzima efectora activada por la proteína G, es la enzima fosfolipasa A2 (abreviada PLA2) se producen cambios en la concentración de una molécula derivada de los fosfolípidos de membrana denominada ácido araquidónico (AA). La PLA2 toma como sustrato un fosfolípido de membrana (que contiene AA en su estructura) generando mediante su hidrólisis AA y un lisofosfolípido. El AA puede generar múltiples respuestas celulares en forma directa y/o mediante sus derivados. Al menos tres enzimas intracelulares toman al AA como substrato generando una variada y extensa cantidad de moléculas derivadas que también pueden generar numerosas respuestas celulares interaccionando con otras proteínas intra o extracelulares (estos compuestos son no polares y pueden difundir fácilmente a través de la membrana celular).

CAPÍTULO 5
Comunicación intercelular

Ignacio León, María José Tolosa, Pablo Mobili

5.1 ¿Cómo se comunican las células?

La capacidad de las células de recibir, procesar y enviar información entre ellas, les permite a los organismos multicelulares responder eficientemente a cambios en el medio externo o en el medio interno, de manera tal de mantener la homeostasis.

En un organismo multicelular las células pueden comunicarse entre sí de diversas maneras, que podemos agrupar en dos categorías principales: señales químicas y señales eléctricas.

La comunicación por medio de señales eléctricas requiere que las células que se comunican estén adyacentes entre sí, y la señal es una corriente iónica que pasa de una célula a la otra, generando un cambio en el potencial de membrana de la célula receptora. El mecanismo más

estudiado de comunicación mediante señales eléctricas es el presente en las llamadas "sinapsis eléctricas" (ver Sección 5.2).

En la comunicación por medio de señales químicas, las señales son moléculas (de diferente naturaleza) que pueden interactuar con otras moléculas localizadas en una célula blanco (generalmente proteínas) que actúan como receptoras. A su vez, las señales químicas pueden actuar de diferentes maneras: en algunos casos la molécula señal está anclada a la membrana de una célula, mientras que en otros casos la molécula señal es un compuesto soluble que es secretado al medio extracelular.

Cuando la molécula señal está anclada a la membrana de una célula, ésta debe ser capaz de colocarse cerca de la célula blanco que debe recibir la señal, la cual a su vez debe contar en su membrana con la proteína receptora capaz de interactuar específicamente con la molécula señal (Figura 5.1A).

Cuando una célula secreta hacia el espacio intersticial un compuesto químico con capacidad de actuar como señal, éste difunde en el líquido extracelular y puede alcanzar a distintas células ubicadas en diferentes localizaciones corporales (incluyendo la propia célula que lo secretó). Sin embargo, en general, una dada sustancia secretada no genera respuestas o cambios en la actividad en todas las células con las que hace contacto. Para que una sustancia secretada pueda generar algún efecto en la célula con la cual entra en contacto es necesario que dicha célula posea una o más proteínas con las cuales esta sustancia pueda interactuar específicamente (el "receptor"), y que estas proteínas cambien su actividad debido a la interacción con la sustancia señal, desencadenando así una respuesta intracelular, tal como se describió en el Capítulo 4.

Cuando la sustancia secretada por una célula ejerce su efecto sobre la misma célula que la secreta, se dice que la sustancia tiene una acción **autocrina** (*auto-* sí mismo) (Figura 5.1B). Si la sustancia tiene acción sobre otras células cercanas a la célula que la secreta, se dice que dicha sustancia tiene una acción **paracrina** (*para-* al lado o cerca) (Figura 5.1C). Por otra parte, si la sustancia secretada por una célula pasa al sistema circulatorio del organismo, se distribuye por vía sanguínea y ejerce su efecto sobre células distantes de aquella célula que la secretó, se dice que dicha sustancia tiene una acción **endocrina**, y a la sustancia se la denomina "**hormona**" (Figura 5.1D).

En general, las moléculas de señalización con acción local son inactivadas rápidamente (en segundos), mientras que las hormonas circulantes pueden persistir en la sangre y ejercer sus efectos por varios minutos o incluso hasta horas luego de ser secretadas.

En los organismos multicelulares más complejos existen numerosos mecanismos generales diferentes de comunicación entre células. A continuación se describirán en mayor detalle ejemplos clásicos de comunicación intercelular mediante señales eléctricas (sinapsis eléctrica), mediante señales químicas ancladas a membrana (presentación de antígenos en el sistema inmune) y mediante señales químicas secretadas que actúan sobre células de las inmediaciones (sinapsis química) o a distancia (señalización endócrina).

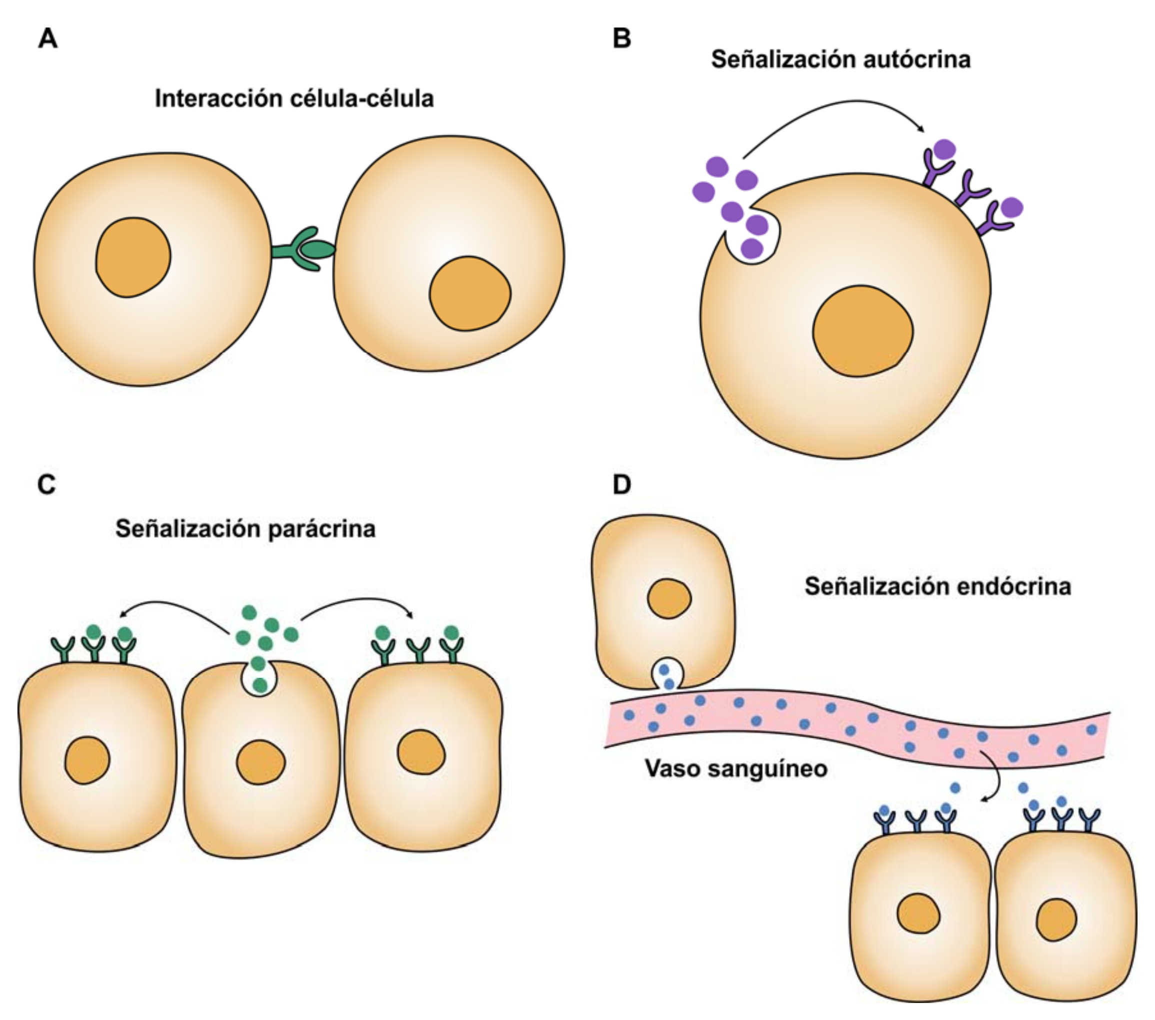


Figura 5.1: Distintos tipos de señalización química entre células

5.2 Comunicación mediante señales eléctricas: sinapsis eléctrica

La **sinapsis eléctrica** se produce entre células adyacentes que presentan uniones en hendidura (“uniones gap"). Cuando dos células adyacentes forman uniones gap, sus membranas citoplasmáticas se encuentran muy próximas entre sí, y presentan canales, llamados conexones, que conectan los citoplasmas de ambas. Los conexones se forman por la yuxtaposición de dos hemicanales, constituidos cada uno por 6 subunidades de la proteína conexina, ubicados uno en cada membrana citoplasmática. Las subunidades de conexina se ensamblan de manera de dejar un poro central acuoso que permite el paso de iones inorgánicos (y en algunos casos también ciertas moléculas orgánicas de pequeño tamaño como glicerol o ATP) desde el citoplasma de una célula hasta el de la célula vecina (Figura 5.2).

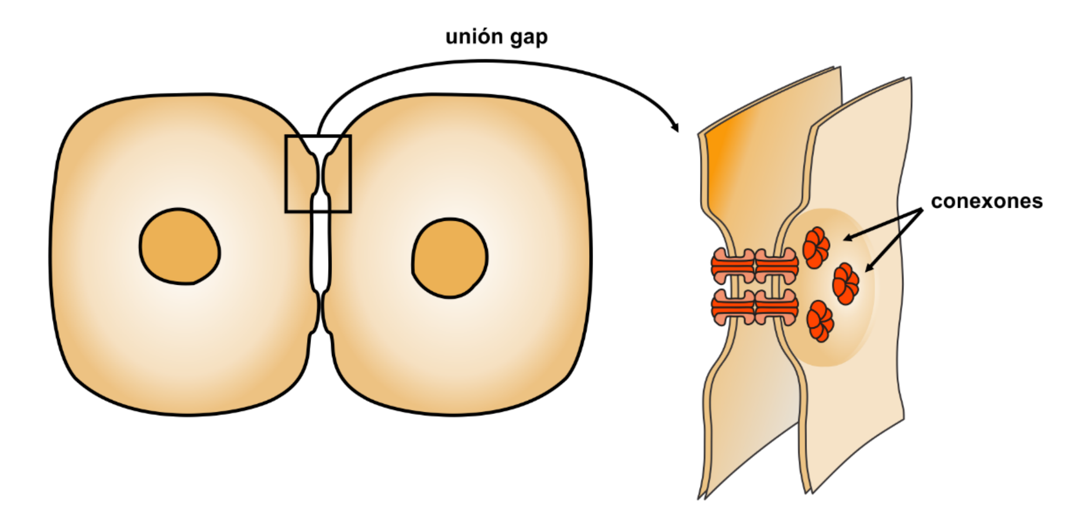


Figura 5.2: Células adyacentes, comunicadas por conexones

Esta comunicación eléctrica a través de los canales permite que, si una célula se despolariza (por ejemplo por generación de un potencial de acción), se produzcan corrientes iónicas despolarizantes hacia las células vecinas. Estas corrientes (llamadas corrientes electrotónicas) hacen despolarizar rápidamente a las células vecinas y, si la magnitud de la despolarización es suficientemente grande, podrían hacer que las células vecinas dispararan nuevos potenciales de acción, de manera casi simultánea con el anterior.

Se encuentran sinapsis eléctricas entre algunas neuronas del SNC, entre las células de músculo cardiaco (Figura 5.3) y entre algunas células de músculo liso.

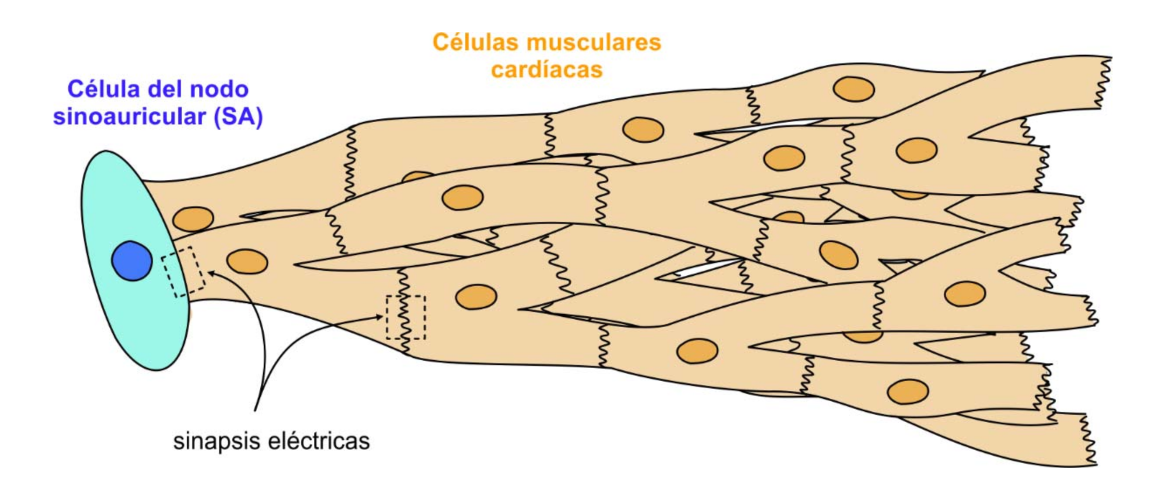


Figura 5.3: La sinapsis eléctrica se produce entre células adyacentes que presentan uniones en hendidura (“uniones gap")

La velocidad de conducción de la información en las sinapsis eléctricas permite que conjuntos de células conectadas de esta manera actúen de manera sincronizada. Por ejemplo, en las células de músculo cardíaco y de músculo liso, los eventos de despolarización causan aumentos en la concentración citoplasmática de Ca^{2+}, lo cual a su vez desencadena la contracción celular. Las uniones gap, al permitir una despolarización casi simultánea de grupos de varias

células, hacen, por ejemplo, que las células de músculo liso o de músculo cardíaco involucradas se contraigan todas a la vez, comportándose como un sincitio funcional.

En algunas uniones gap los conexones pueden cerrarse ante aumentos de la concentración intracelular de Ca^{2+} o de H^{+}, lo que permite regular entre qué células se produce la sinapsis eléctrica y el sentido en que se conducen las señales despolarizantes entre las mismas.

5.3 Comunicación mediante señales químicas ancladas a la membrana

La comunicación entre células mediante señales químicas ancladas a la membrana (generalmente proteínas), produce una unión física entre las células que se comunican, y la interacción de los receptores de superficie activa vías de señalización intracelulares como las tratadas en el capítulo 4. Los resultados de la activación de dichas vías de señalización dependerán del tipo de células que estén interactuando. En general, este tipo de comunicación está involucrada en procesos en los cuales la unión física entre las células que se comunican permite el desarrollo de funciones fisiológicas que no se podrían dar si las células estuviesen separadas (por ej. la adhesión de una célula del sistema inmune, que circula por la sangre, a una célula endotelial vascular permite a la célula inmune pasar al medio extravascular en localizaciones específicas) o permite la restricción de la comunicación de una señal a unas pocas células específicas de entre todas las células vecinas (p. ej. una célula del sistema inmune envía señales solubles que actúan sobre la célula a la que se encuentra unida de manera específica, y no sobre otras células cercanas no unidas).

A continuación analizaremos en más detalle algunos ejemplos de estas comunicaciones que involucran la unión de moléculas señal ancladas a la membrana.

5.3.1 Interacción entre una célula circulante en sangre y una célula del endotelio vascular

Las células del sistema inmune que circulan en la sangre recorren los vasos sanguíneos de todo el organismo, pero muchas veces deben ejercer su acción en un sitio extravascular donde, por ejemplo, se está produciendo una invasión por algún microorganismo. Si bien en dicho sitio se secretan distintos tipos de señales solubles (denominadas citoquinas) que difunden desde el sitio de infección, y que pueden atraer células inmunes que están en las inmediaciones, muchas veces dichas señales no logran difundir fácilmente a la sangre, o si pasan, son arrastradas por el fluído circulante no pudiendo marcar el lugar en el que las células inmunes deben abandonar los vasos sanguíneos para alcanzar el lugar extravascular donde se encuentran los microorganismos.

En estas situaciones, el endotelio vascular de los capilares sanguíneos actúa como nexo entre las señales solubles que se producen en el sitio de infección extravascular y las células del sistema inmune que circulan por los vasos.

Cuando dichas señales solubles llegan hasta las células endoteliales cercanas al sitio de infección, activan vías de señalización que estimulan la aparición de proteínas receptoras ancladas en la membrana apical de la célula endotelial que se expone hacia la sangre. Estas proteínas receptoras actuarán como señal química para las células del sistema inmune marcando así en forma efectiva el lugar de la infección.

Las células del sistema inmune circulantes, a su vez, tienen en su superficie proteínas ancladas a la membrana que son capaces de unirse a estas moléculas de adhesión que aparecen en las células endoteliales, y esta unión hace que las células se desplacen más lentamente en ese lugar específico. De esta manera, permanecen más tiempo interactuando con el endotelio de los vasos que irrigan la zona infectada que en las zonas donde el endotelio no expresa las moléculas de adhesión (p. ej. en los sitios donde no hay infección). La interacción, activa también vías de señalización hacia el interior de la célula endotelial y hacia el interior de la célula inmune unida, y en ambas se estimula la aparición de nuevas proteínas de adhesión ancladas a la membrana. La interacción de estas otras proteínas permite una unión más fuerte y más duradera entre la célula inmune y la célula endotelial. Esta interacción hace que la célula inmune cese su movimiento y quede unida a la célula endotelial, y también hace que en la célula endotelial se activen vías de señalización intracelulares que estimulan su separación con respecto a las células endoteliales vecinas, aumentando así la permeabilidad del endotelio. A su vez, esta permeabilización del endotelio permite el pasaje de la célula inmune desde el interior del capilar sanguíneo hasta la región extravascular donde está ocurriendo la infección (Figura 5.4).

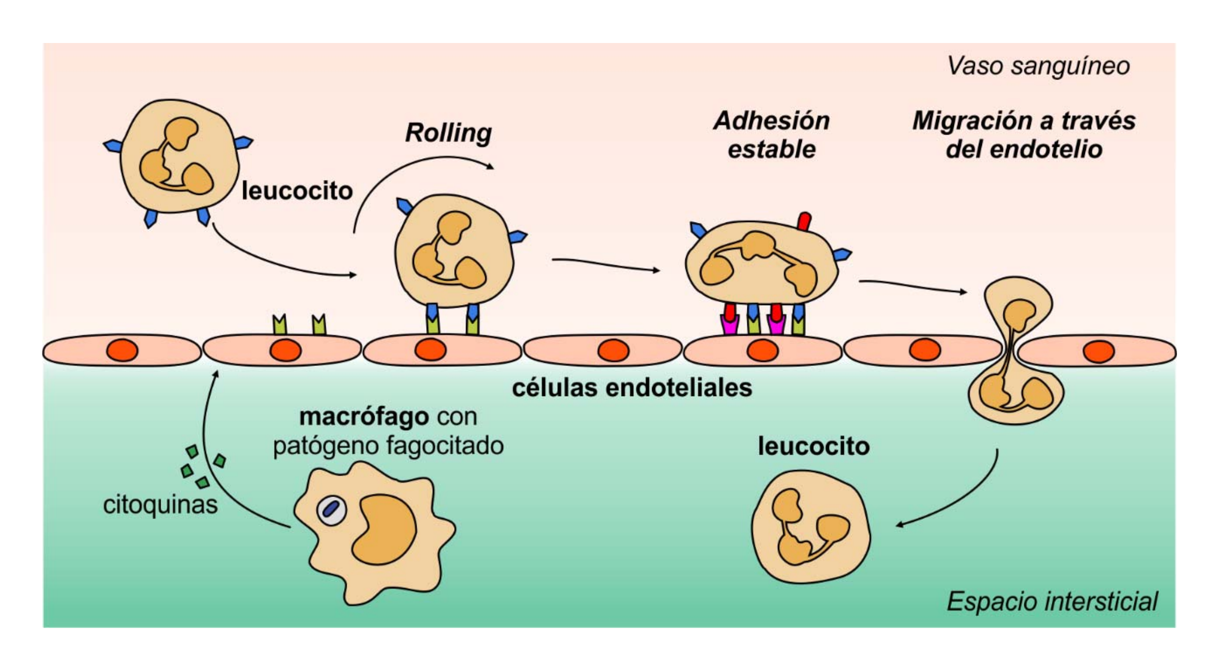


Figura 5.4: Interacción de célula sanguínea (leucocito) con las células endoteliales, rolling y extravasación

Estas proteínas de adhesión ancladas a membrana pertenecen a distintas familias, y su identidad varía entre los distintos tipos celulares, sin embargo su rol en la comunicación intercelular sigue la lógica del mecanismo explicado anteriormente.

5.3.2 Interacción entre dos células del sistema inmune durante la presentación de antígenos

Algunas células del sistema inmune, como los macrófagos y los linfocitos B, tienen la capacidad de unirse de manera específica a distintos tipos de moléculas presentes en el medio extracelular. Luego pueden fagocitar estas moléculas (y/o al agente infeccioso que las presenta) y destruirlas a través de la utilización de diferentes agentes líticos (enzimas, agentes oxidantes, etc). A las moléculas que pueden unirse específicamente a receptores presentes en las células del sistema inmune se las denomina antígenos.

En este caso, las proteínas fagocitadas son cortadas en fragmentos, dando como resultado un conjunto de péptidos, los cuales luego pueden ser usados para generar moléculas señal que pueden activar a otras células del sistema inmune: los linfocitos T colaboradores (LfTh).

Para que los péptidos generados a partir de la destrucción de las proteínas fagocitadas (péptidos antigénicos) sirvan como moléculas señal que activen a los LfTh, estos péptidos no pueden estar libres en el medio extracelular, sino que deben estar unidos a proteínas específicas ancladas en la membrana de la célula que los presenta. A estas proteínas de superficie que se usan para presentar péptidos a los LfTh se las conoce como proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad de tipo II (MHC tipo II).

A las células que pueden presentar, en su superficie, péptidos antigénicos unidos a moléculas de MHC tipo II se las denomina células presentadoras de antígenos profesionales (CPA). Cada CPA presenta en su superficie numerosas moléculas de MHC tipo II, cada una con un péptido (igual o diferente) proveniente de la degradación de alguna proteína fagocitada. Es decir, una dada CPA tiene en su superficie numerosas moléculas ancladas a la membrana que pueden servir como señal para los LfTh.

Cada LfTh tiene ancladas en la superficie de su membrana citoplasmática múltiples copias idénticas de la molécula receptora (llamada receptor de célula T o TCR), que le permiten unirse de manera específica a un único tipo de conjunto péptido-MHC tipo II.

El péptido, para poder servir como señal para los LfTh, además de estar unido a una molécula de MHC tipo II, debe cumplir la condición de **no provenir** de proteínas del propio organismo. Esto es así porque durante la maduración de los LfTh son eliminados todos los LfTh cuyo TCR se una específicamente a péptidos provenientes de proteínas propias unidos a moléculas de MHC tipo II. Por lo tanto, los TCR de los LfTh sólo reconocerán péptidos no propios (por ej. provenientes de proteínas de bacterias o virus) unidos a proteínas de MHC tipo II.

Cuando un LfTh se encuentra con una CPA que presenta en su superficie un conjunto péptido-MHC tipo II que puede unirse específicamente a su receptor TCR, ambas células se unen a través de la interacción entre estos receptores. Esta unión es a su vez reforzada por interacciones entre otras moléculas ancladas a las membranas de cada una de las células, que se ubican en las cercanías del sitio donde se produjo la interacción inicial del TCR con el conjunto péptido-MHC tipo II (Figura 5.5). Debido a las múltiples y fuertes interacciones entre las moléculas de superficie de cada célula, las membranas citoplasmáticas de ambas células quedan muy cercanas una de la otra.

La unión entre las moléculas de superficie de ambas células, activa vías de señalización intracelulares que estimulan la secreción de distintas citoquinas por parte de los LfTh. Estas citoquinas, son reconocidas por moleculas receptoras específicas presentes en la CPA, y generarán cambios en la actividad de la CPA correspondiente (por ejemplo, proliferación y secreción de anticuerpos si la CPA es un linfocito B, o aumento de la capacidad fagocítica si la CPA es un macrófago). Además, estas citoquinas tienen receptores en numerosas células del sistema inmune, por lo que podrían generar cambios en el estado de activación de cualquier célula a la que alcanzaran en cantidad suficiente. Sin embargo, al ser liberadas de manera limitada en la región donde está ocurriendo la interacción física entre la CPA y el LfTh (donde las membranas de ambas células se encuentran muy cercanas una de la otra) estas citoquinas secretadas por el LfTh sólo hacen afecto sobre la CPA que está presentando en su membrana el conjunto péptido-MHC tipo II que es reconocido por el TCR del LfTh (Figura 5.5).

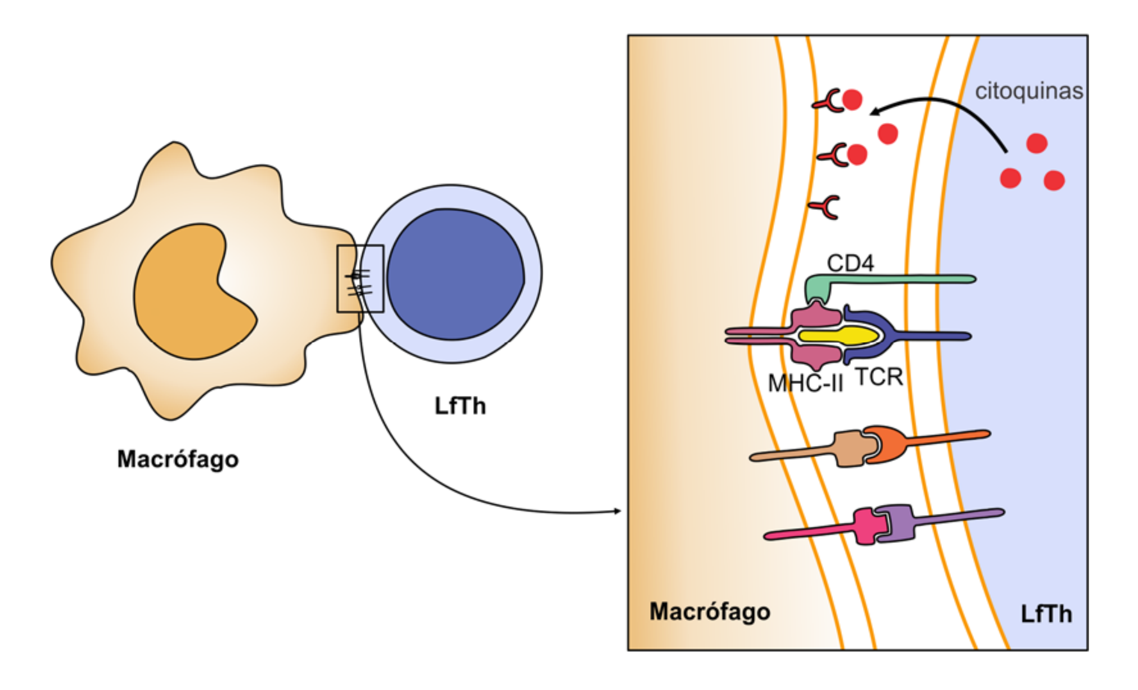


Figura 5.5: Un macrófago presenta un antígeno a un linfocito T colaborador (LfTh). Se observa el detalle de la interacción del conjunto péptido-MHCII con el TCR, las proteínas accesorias que interactúan (CD4 entre otras) y la secreción de citoquinas por parte del LfTh, que activan al macrófago a través del receptor de citoquinas que presenta el macrófago.

Otra situación en la cual la unión entre moléculas ancladas a la membrana limita los efectos de señales solubles liberadas al medio extracelular se observa cuando una célula presenta péptidos derivados de proteínas virales a otra célula del sistema inmune, el linfocito T citotóxico (LfTc).

Cualquier célula nucleada del organismo tiene la capacidad de procesar las proteínas que se están sintetizando en su citoplasma mediante un complejo enzimático llamado proteasoma. El resultado de este proceso es un conjunto de péptidos que pueden ser usados para generar moléculas señal que activen a los LfTc.

Para que los péptidos generados a partir de la destrucción de las proteínas sintetizadas en el citoplasma sirvan como moléculas señal que activen a los LfTc, estos péptidos deben estar unidos a proteínas específicas ancladas en la membrana de la célula que los presenta. A estas proteínas de superficie que usan las células nucleadas para presentar péptidos a los LfTc se las conoce como proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (MHC tipo I).

De esta manera, cada célula nucleada del organismo muestra en su superficie un gran número de proteínas del MHC tipo I cargadas con péptidos (iguales o diferentes) que provienen de la degradación de las proteínas del citoplasma de la propia célula. Es decir, una dada célula tiene en su superficie numerosas moléculas ancladas que pueden servir como señal para los LfTc.

Cada LfTc tiene ancladas en la superficie de su membrana citoplasmática múltiples copias idénticas de una molécula receptora (llamada receptor de célula T o TCR), que le permite unirse de manera específica a un único tipo de conjunto péptido-MHC tipo I.

Al igual que en el caso anterior, el péptido, además de estar unido a una molécula de MHC tipo I, debe cumplir la condición de no provenir de proteínas del propio organismo para poder servir como señal para los LfTc. Esto es así porque durante la maduración de los LfTc son eliminados todos los LfTc cuyo TCR se una específicamente a péptidos de proteínas propias unidos a moléculas de MHC tipo I propias. Por lo tanto los TCR de los LfTc sólo reconocerán péptidos no propios (por ej. provenientes de proteínas de virus que se están sintetizando en el citoplasma de la célula presentadora) unidos a proteínas de MHC tipo I propias.

Cuando un LfTc se encuentra con una célula que presenta en su superficie el conjunto péptido-MHC tipo I que puede unirse específicamente a su receptor TCR, ambas células se unen a través de la interacción entre estos receptores. Esta unión es a su vez reforzada por interacciones entre otras moléculas ancladas a las membranas de cada una de las células, que se ubican en las cercanías del sitio donde se produjo la interacción inicial del TCR con el conjunto péptido-MHC tipo I (Figura 5.6). Debido a las múltiples y fuertes interacciones entre las moléculas de superficie de cada célula, las membranas citoplasmáticas de ambas células quedan muy cercanas una de la otra.

La unión entre las moléculas de superficie de ambas células activa vías de señalización intracelulares que estimulan la secreción de distintas moléculas por parte de los LfTc. Una

de estas moléculas es una proteína llamada perforina, que forma un poro en la membrana de la célula nucleada que está unida al LfTc. Otra molécula secretada es la enzima granzima, que puede penetrar en dicha célula a través del poro formado por la perforina e iniciar el proceso de apoptosis, que lleva a la muerte de la célula. La perforina y la granzima podrían generar la muerte de cualquier célula a la que alcanzaran en cantidad suficiente. Sin embargo, al ser liberadas de manera limitada en la región donde está ocurriendo la interacción física entre la célula que presenta el péptido y el LfTc (donde las membranas de ambas células se encuentran muy cercanas una de la otra) estas proteínas secretadas por el LfTc sólo hacen afecto sobre la célula que está presentando en su membrana el conjunto péptido-MHC tipo I que es reconocido por el TCR del LfTc (Figura 5.6).

De esta manera, una célula nucleada infectada con un virus sintetiza proteínas del virus en su citoplasma, y los péptidos derivados de la degradación de algunas de estas proteínas virales aparecen en la superficie de la célula, unidos a proteínas de MHC tipo I ancladas a la membrana. Estos conjuntos de péptido viral – MHC tipo I pueden unirse al TCR de un LfTc, y esta es la señal que activa al LfTc y hace que secrete perforinas y granzima, que causan la muerte de la célula que presentaba los péptidos virales, pero no de otras células cercanas que no estaban infectadas con virus y por lo tanto no se unían al LfTc.

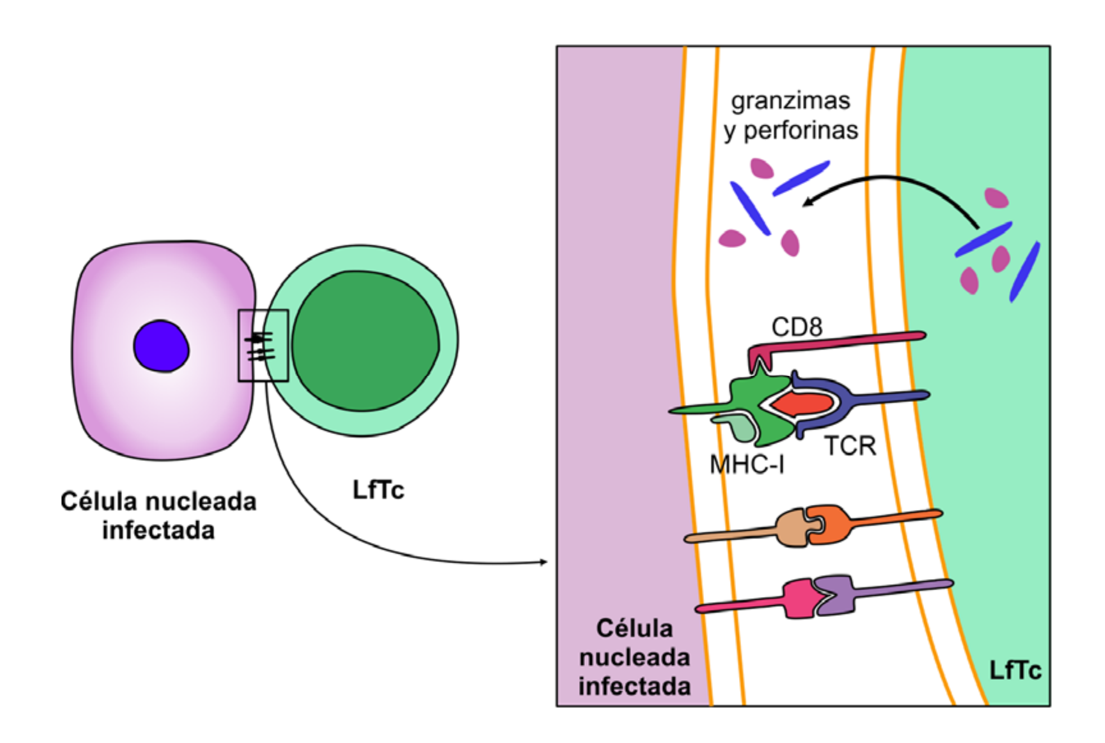


Figura 5.6: Una célula nucleada infectada por un virus presenta un antígeno a un linfocito T citotóxico (LfTc). Se observa el detalle de la interacción del conjunto péptido-MHCI con el TCR, las proteínas accesorias (CD8 entre otras) que interactúan y la secreción, por parte del LfTc, de perforinas y granzimas que inducirán la apoptosis de la célula infectada.

5.4 Comunicación mediante señales químicas, secretadas al medio extracelular, que actúan sobre células muy cercanas: sinapsis química

En la **sinapsis química,** una célula (en general una neurona) libera una sustancia (el neurotransmisor) al medio extracelular. Este neurotransmisor difunde en un espacio muy corto (entre 20 y 50 nm) hasta alcanzar los receptores específicos presentes en otra célula (otra neurona o una célula muscular o de otro tipo).

La neurona que libera el neurotransmisor se llama célula **presináptica**, la célula que tiene los receptores para el neurotransmisor se llama célula **postsináptica** y el espacio entre ambas es el **espacio sináptico** (o espacio intersináptico).

En la sinapsis química, una señal eléctrica proveniente de la célula presináptica es transformada en una señal química (el neurotransmisor, NT), que se libera al espacio sináptico. El NT luego es reconocido por los receptores presentes en la porción de membrana de la célula postsináptica cercana a la región de la célula presináptica donde fue liberado. Esta señal química o NT es convertida, en la célula postsináptica, nuevamente en una señal eléctrica.

Existen numerosas sustancias que actúan como neurotransmisores, la mayor parte son péptidos (somatostatina, péptidos opioides), aminoácidos (glutamato, glicina) o derivados de aminoácidos (serotonina, adrenalina, noradrenalina, dopamina, histamina), aunque existen neurotransmisores que no pertenecen a ninguno de estos tres grupos (acetilcolina, adenosina, ATP, óxido nitrico).

En una neurona típica como la presentada en la Figura 5.7, podemos distinguir tres regiones con funciones diferenciadas: el cuerpo o soma neuronal, el axón y la terminal axónica. Los neurotransmisores, independientemente de su naturaleza química, son liberados desde la terminal axónica, pero difieren en cuanto a su sitio de síntesis y su modo de secreción. Los neurotransmisores peptídicos son sintetizados en el soma de la neurona, empaquetados en vesículas, transportados por el axón hasta la terminal axónica y liberados mediante exocitosis. Los demás neurotransmisores son sintetizados en la propia terminal axónica, pero, mientras los de naturaleza hidrofílica son también almacenados en vesículas y secretados mediante exocitosis, los de naturaleza lipofílica como el gas óxido nítrico (NO) no se pueden almacenar en vesículas sino que difunden a través de la membrana citoplasmática a medida que son sintetizados (Figura 5.8).

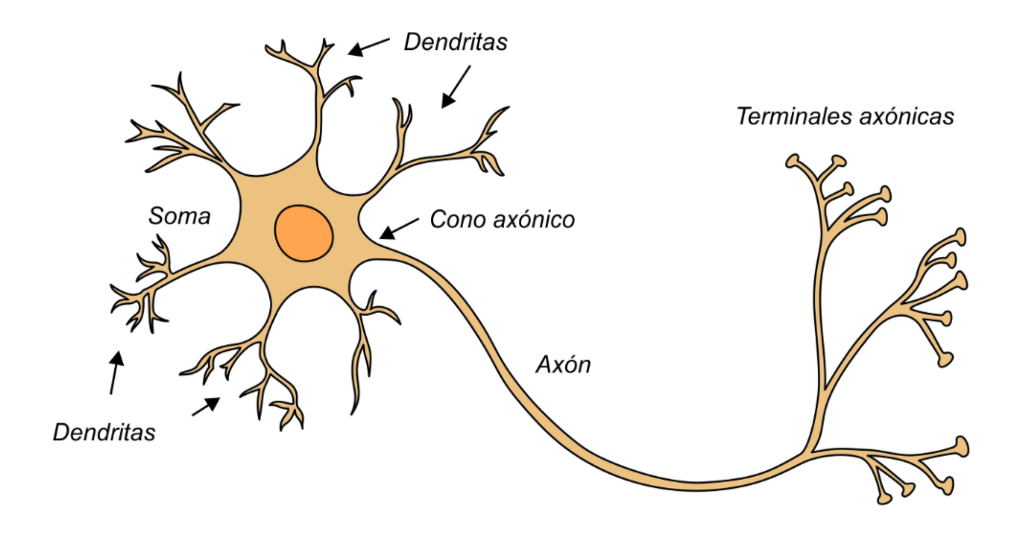


Figura 5.7: Neurona y sus elementos típicos

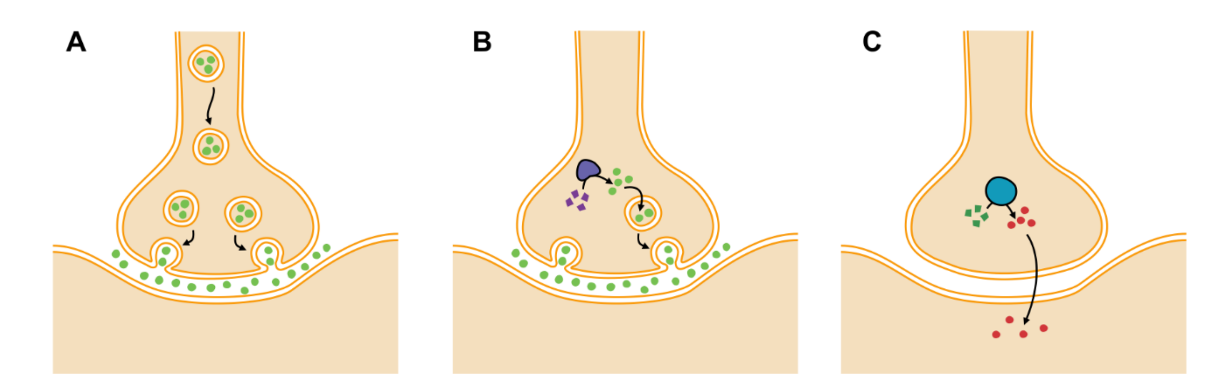


Figura 5.8: Terminales axónicas con diferentes mecanismos de secreción de neurotransmisor (NT). (A) el NT peptídico es sintetizado en el soma, empaquetado en vesículas que se transportan por el axón hasta la terminal axónica, donde el NT se libera por exocitosis; (B) el NT es sintetizado y empaquetado en vesículas en la terminal axónica, donde el NT se libera por exocitosis; (C) el NT liposoluble es sintetizado en la terminal axónica y se libera por difusión simple a medida que se sintetiza.

En todos los casos, la señal para la liberación del neurotransmisor es un aumento en la concentración de Ca^{2+} en la terminal axónica. Para la secreción de los neurotransmisores hidrofílicos, el Ca^{2+} interactúa con proteínas presentes en las membranas de las las vesículas que contienen el neurotransmisor, induciendo la fusión de estas vesículas con la membrana citoplasmática de la terminal axónica y la consecuente exocitosis del neurotransmisor al espacio sináptico. Para el caso de los neurotransmisores lipofílicos, el Ca^{2+} se une a la proteína calmodulina, y el complejo Ca^{2+} - calmodulina activa al complejo enzimático responsable de la síntesis del neurotransmisor; el neurotransmisor sale a través de la membrana de la terminal axónica mediante difusión simple a medida que se sintetiza (Figura 5.9).

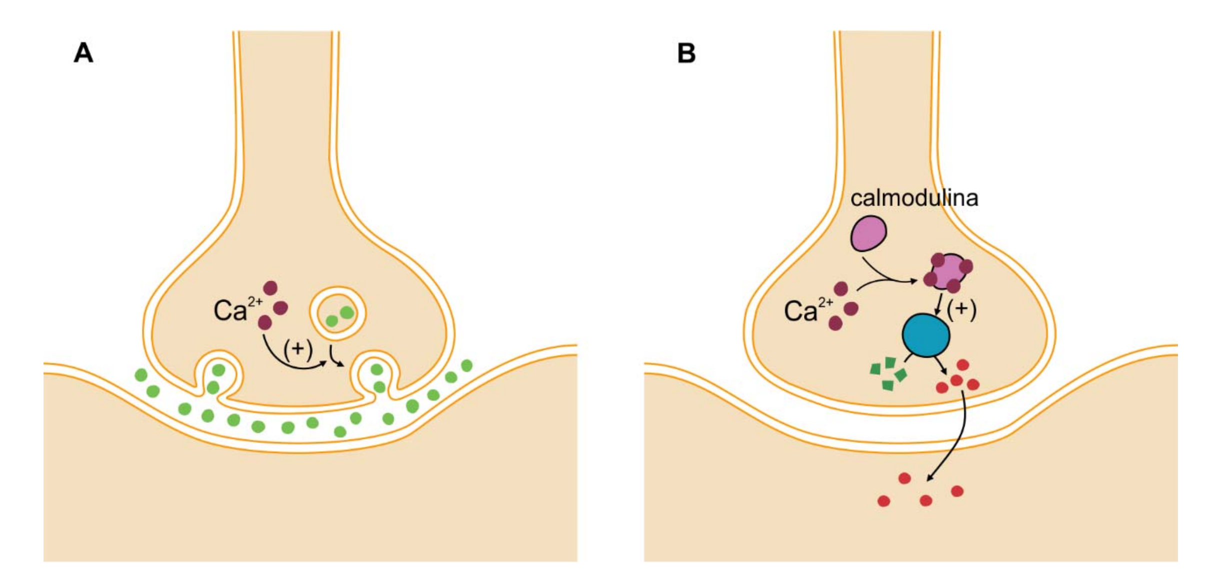


Figura 5.9: Liberación de NT dependiente del aumento de la concentración de calcio en la terminal sináptica, (A) para neurotransmisores hidrofílicos y (B) para neurotransmisores lipofilicos cuya liberación depende de calmodulina.

La secuencia de eventos necesarios para que se dé la comunicación entre células mediante una sinapsis química se puede resumir de la siguiente manera:

La transmisión sináptica comienza con la llegada de un potencial de acción a la porción del axón adyacente a la terminal axónica. El potencial de acción causa una despolarización de la terminal axónica, y ésta despolarización produce un aumento en la probabilidad de apertura de canales de Ca^{2+} operados por voltaje localizados en la terminal axónica. Aumenta la corriente entrante de Ca^{2+} y esto genera un aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} que constituye la señal para la fusión de las vesiculas y la secreción del neurotransmisor hacia el espacio sináptico. El neurotransmisor difunde por el espacio sináptico y alcanza sus receptores específicos en la membrana de la célula postsináptica. La interacción del neurotransmisor con su receptor, en forma directa o indirecta, genera un cambio en el potencial de membrana postsináptica (llamado potencial postsináptico). Este potencial postsináptico puede aumentar o disminuir la probabilidad de que en la célula postsináptica se genere un potencial de acción (llamándose entonces potencial post sináptico excitatorio o inhibitorio, respectivamente). El efecto sobre la célula postsináptica se mantiene hasta que se produce la eliminación de la señal del espacio sináptico y/o los receptores del neurotransmisor dejan de estar disponibles.

A continuación describiremos en más detalle algunos de estos eventos.

Llegada de un potencial de acción a la región del axón adyacente a la terminal axónica de la neurona

En una neurona tipo como la representada en la Figura 5.7, los potenciales de acción se inician en la región donde el axón se une al soma neuronal (el cono axónico), y se autopropagan a lo largo del axón hasta la región de la terminal axónica. Como se mencionó en el capítulo 3, para que se genere un potencial de acción en una determinada región de la membrana celular se requiere que se

produzca una despolarización de una magnitud que alcance un valor de potencial de membrana umbral que permita la apertura de una cantidad suficiente de canales de Na^{+} operados por voltaje. El potencial de acción generado en el cono axónico, sirve de estímulo despolarizante para la generación de un nuevo potencial de acción en la región adyacente del axón, y de esta manera los potenciales de acción se autopropagan sin atenuación a lo largo de todo el axón hasta la terminal axónica.

Despolarización de la terminal axónica, incremento de la concentración de Ca^{2+} y liberación del neurotransmisor

La llegada de un potencial de acción a la región adyacente a la terminal axónica sirve como estímulo, a través de la generación de corrientes electrotónicas, para generar la despolarización de la membrana en esta región que induce a la secreción del NT. Esta despolarización de la membrana aumenta la probabilidad de apertura de canales de Ca^{2+} operados por voltaje, generando una corriente de Ca^{2+} desde el extracelular al intracelular que produce un aumento en la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma de la terminal axónica. Como se indicó anteriormente, este aumento de la concentración de Ca^{2+} sirve de estímulo para la exocitosis del neurotransmisor almacenado en vesículas (Figura 5.10).

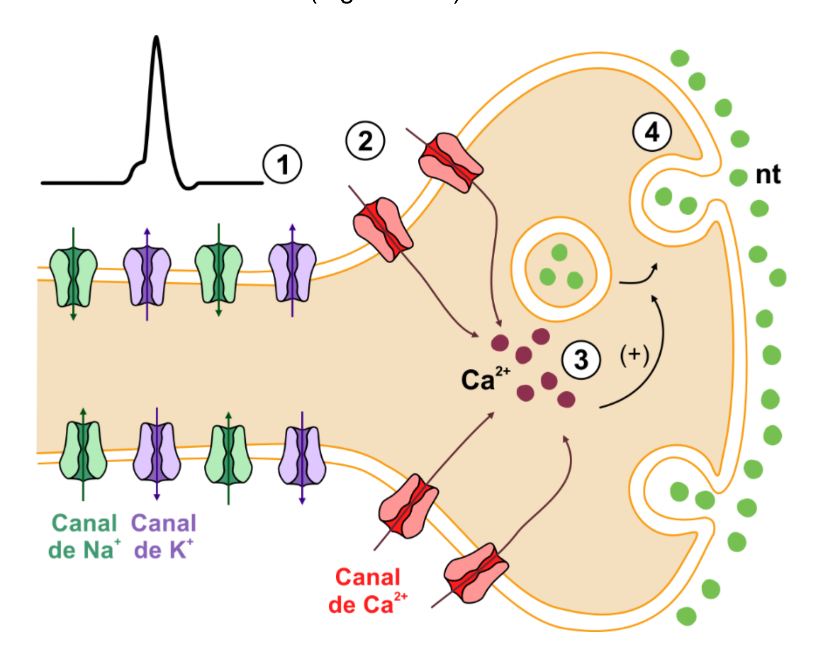


Figura 5.10: Secuencia de eventos que conducen a la liberación de neurotransmisor en la terminal axónica: Potencial de acción → corriente entrante de Ca^{2+} → fusión de vesículas con la membrana presináptica → liberación de neurotransmisor (ver explicación en el texto)

La cantidad de neurotransmisor liberado, y por lo tanto la concentración que alcanza en el espacio intersináptico, depende del grado de despolarización logrado en la terminal axónica, el cual depende a su vez del número de potenciales de acción que alcancen la terminal axónica por unidad de tiempo (frecuencia de potenciales de acción) y de la presencia o no de otras señales que modifiquen el potencial de la membrana en dicha terminal (p. ej. otras sinapsis axón-axón).

Interacción entre el neurotransmisor y su receptor

Los neurotransmisores difunden a través del espacio sináptico hasta unirse a sus receptores específicos ubicados en la membrana de la célula postsináptica que forma parte de la sinápsis. Como se mencionó en el capítulo 4, cuando los ligandos son hidrofílicos (neurotransmisores peptídicos, aminoácidos o derivados de aminoácidos, aminas) los receptores deben estar localizados en la membrana citoplasmática de la célula postsináptica, mientras que para los neurotransmisores lipofílicos como el NO los receptores están ubicados en el citoplasma de la célula postsináptica.

La unión de los neurotransmisores con sus receptores genera una respuesta que en general está relacionada con el cambio en la probabilidad de apertura de canales iónicos y el consiguiente cambio en el potencial de membrana en la célula postsináptica (potencial postsináptico).

La respuesta que el neurotransmisor genera en la célula postsináptica dependerá de dos factores importantes: la cantidad de neurotransmisor en el espacio sináptico y el tipo de receptor que tenga dicha célula para ese neurotransmisor. La cantidad de neurotransmisor liberado afectará el número de receptores involucrados en la respuesta y el tiempo durante el cual dichos receptores están activados. El tipo de receptor que la célula tenga para el neurotransmisor determinará el tipo de respuesta de la célula (por ejemplo despolarización, hiperpolarización, cambio en la concentración de Ca^{2+}) y la duración de la misma.

Generación de la respuesta en la célula postsináptica

En la célula postsináptica podemos encontrar dos tipos principales de receptores de neurotransmisores:

- **Receptores tipo canal iónico o receptores ionotrópicos,** que modifican su probabilidad de apertura al unirse al neurotransmisor y generan así un cambio en el potencial de membrana en la célula postsináptica (ejemplos: receptor-canal catiónico no selectivo sensible a acetilcolina, canal de cloruro sensible a GABA, etc.) (Figura 5.11A).

- **Receptores metabotrópicos** (acoplados a proteína G), que luego de varios pasos en cascada pueden desencadenar cambios en la probabilidad de apertura de diferentes canales iónicos y generan así un cambio en el potencial de membrana en la célula postsináptica (Figura 5.11B).

Como se mencionó en el capítulo 4, los receptores canal iónico producen respuestas que se desarrollan más rápidamente, pero también se extinguen más rápidamente cuando la molécula señal desaparece. Por lo contrario, los receptores de tipo metabotrópico producen respuestas que se desarrollan más lentamente, pero permiten una amplificación de la señal y los efectos tardan más tiempo en desaparecer una vez que la molécula señal es eliminada ya que los productos de la cascada de señalización pueden tener una vida media mayor.

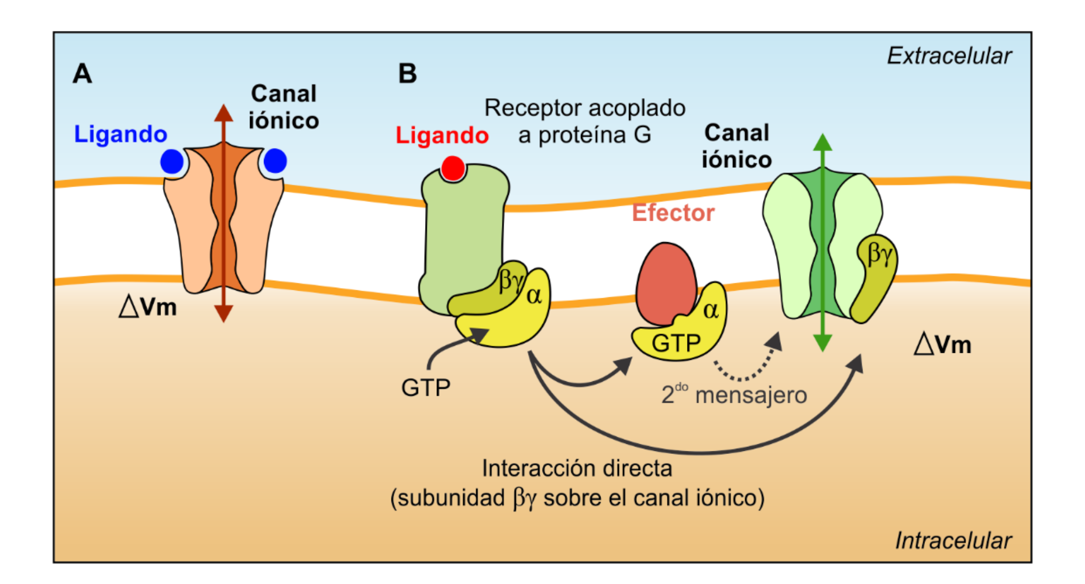


Figura 5.11: (A) Receptores ionotrópicos, donde el ligando actúa directamente sobre una proteína receptor- canal iónico, y (B) receptores metabotrópicos, donde el ligando actúa sobre un receptor acoplado a proteína G, y la proteína G puede modular directamente la actividad de un canal iónico o activar una enzima (efector) que genera un segundo mensajero y éste modula la actividad de un canal iónico.

La activación de los diferentes tipos de receptores producirá variaciones en el potencial de membrana de la célula postsináptica en la zona donde se encuentran dichos receptores (potencial postsináptico), lo que puede ocasionar que esta célula modifique su actividad dependiendo de la magnitud del potencial postsináptico.

Según el tipo de iones que permitan pasar los receptores-canales o los canales que fueron activados directa o indirectamente por el neurotransmisor, el potencial postsináptico generado podrá ser despolarizante (potencial postsináptico excitatorio, PPE) o hiperpolarizante (potencial postsinático inhibitorio PPI). Por ejemplo, si se produce la apertura de canales de Na^+, la entrada de Na^+ a la célula generará una despolarización de la membrana o PPE, en cambio, si se produce la apertura de canales de K^+, la consecuente salida de K^+ generará una hiperpolarización de la membrana o PPI.

Como se mencionó en el capítulo 3, las variaciones en el potencial de membrana generadas por la interacción del neurotransmisor con sus receptores, ocurren en la región de la membrana donde están localizados dichos receptores. Sin embargo, pueden generarse corrientes electrotónicas entre estas regiones y aquellas regiones adyacentes de la membrana celular que están en su valor de Vm de reposo, de manera tal que las despolarizaciones o hiperpolarizaciones generadas por los neurotransmisores en una región de la célula postsináptica pueden conducirse hasta otras regiones de la misma célula. Este efecto despolarizante o hiperpolarizante se irá atenuando a medida que aumente la distancia con el punto donde se originó inicialmente el cambio de potencial (Figura 5.12).

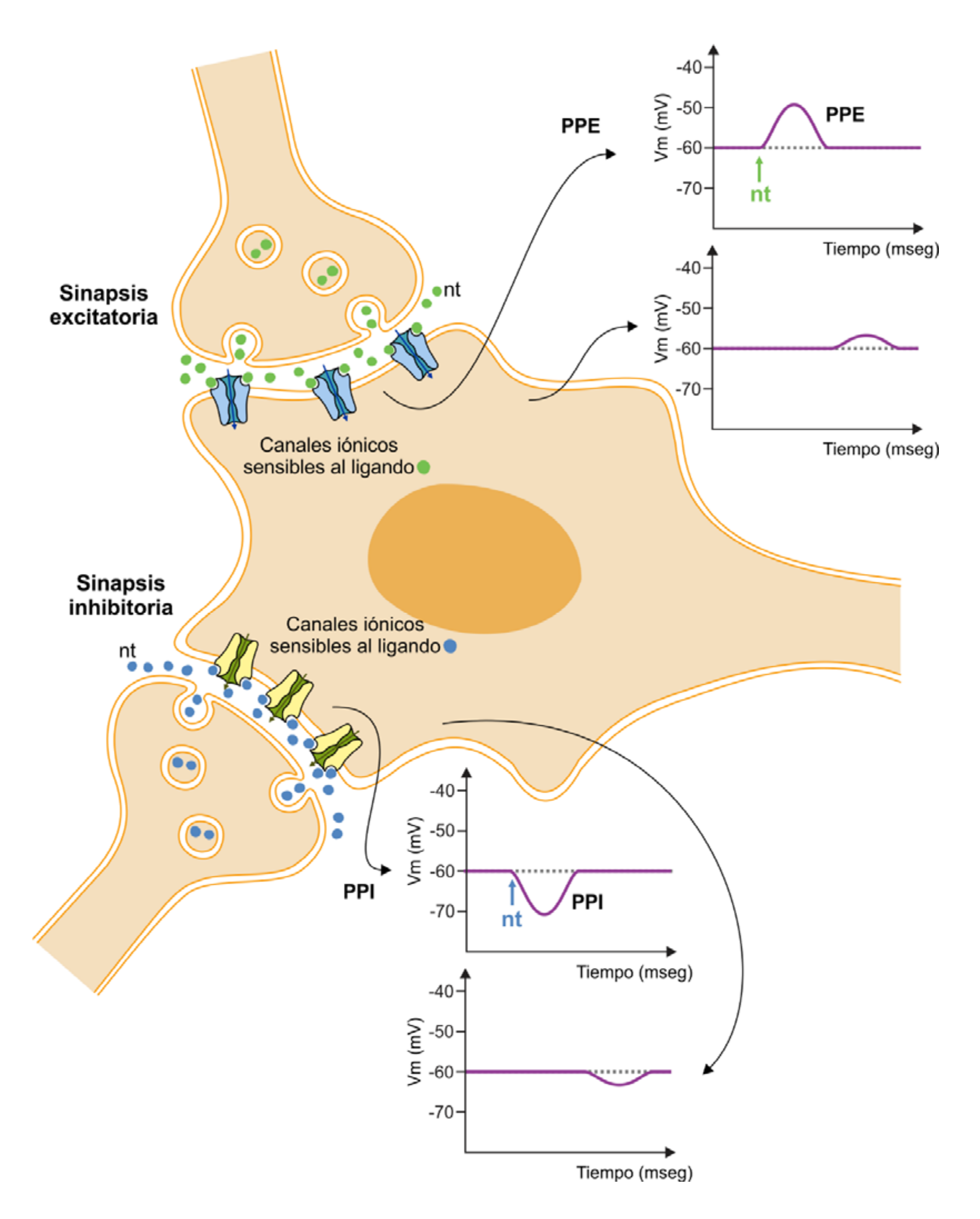


Figura 5.12: Esquema del soma de una neurona con sinapsis con otras neuronas que generan PPE y PPI; las variaciones temporarias del V_m se atenúan al aumentar la distancia desde el lugar de la sinapsis.

Además, dependiendo del tipo de célula postsináptica que estemos considerando, los cambios en la actividad, debidos a la llegada del neurotransmisor, podrían ser de diferente naturaleza. Por ejemplo, si la célula postsináptica es una neurona, podría modificarse la frecuencia de potenciales de acción que se generan en su cono axónico y así la cantidad de neurotransmisor liberado por ésta; si la célula postsinática es una célula de una glándula endócrina podría modificarse la cantidad de hormona liberada por ésta; si es una célula de una glándula exócrina podría modificarse la cantidad de enzima liberada por ésta; si es una célula muscular, podría modificarse su grado de contracción.

A continuación, analizaremos en más detalle algunas situaciones particulares de las sinapsis:

5.4.1 Sinapsis entre una neurona y el soma o las dendritas de otra neurona

Como se mencionó previamente, en una neurona típica como la representada en la Figura 5.9, los potenciales de acción se generan en el cono axónico cuando la membrana en esta región se despolariza hasta alcanzar el valor de potencial umbral. Una manera de llevar el potencial de membrana del cono axónico hasta el valor umbral, es que en el soma de la neurona (en sus puntos de sinapsis con otras neuronas ya sea en el soma y/o en las dendritas) se generen potenciales postsinápticos despolarizantes de magnitud suficiente como para despolarizar el cono axónico mediante corrientes electrotónicas.

En el Capítulo 3 vimos que los potenciales postsinápticos son potenciales graduados, que tienen una magnitud y una duración que dependen de la cantidad de neurotransmisor presente en el espacio sináptico. Por lo general, la magnitud del cambio del potencial de membrana en un único potencial postsináptico es muy pequeña (menos de 5 mV). Además, la despolarización propagada por corrientes electrotónicas en las dendritas y en el soma de la neurona pierde intensidad a medida que se aleja de los canales activados por el neurotransmisor. Es por esto que los potenciales postsinápticos despolarizantes individuales no son suficientes para llevar el potencial de membrana del cono axónico hasta el valor umbral que permite generar un potencial de acción. Sin embargo, el soma y las dendritas de una neurona pueden recibir numerosas sinapsis de otras neuronas. Una neurona típica del sistema nervioso central tiene una gran cantidad de contactos sinápticos (entre 1000 y 10000 sinapsis), por lo que la actividad de la célula postsináptica se encuentra bajo la influencia de numerosas células presinápticas, cada una liberadora de diferentes neurotransmisores que se unirán a diferentes receptores, generando diferentes potenciales postsinápticos despolarizantes e hiperpolarizantes. Será la integración espacial y temporal de los efectos despolarizantes e hiperpolarizantes de los diferentes potenciales postsinápticos, la que determinará si en la región del cono axónico de la neurona postsináptica el potencial de membrana alcanza el valor umbral para disparar uno o más potenciales de acción.

A la integración, tanto en el tiempo como en el espacio, del conjunto de señales eléctricas generadas por los neurotransmisores de cada una de las células presinápticas, se la conoce como "**suma de potenciales postsinápticos**", y es fundamental para determinar la facilidad con que la neurona podrá generar uno o más potenciales de acción en su cono axónico.

La **suma temporal** de los potenciales postsinápticos resulta de la acumulación de los efectos causados por una única neurona presináptica que libera neurotransmisores dos o más veces en una rápida sucesión de tiempo. Como la duración de un potencial postsináptico puede ser de alrededor de 15 milisegundos, si una neurona realiza dos liberaciones de neurotransmisor en un lapso de tiempo menor, el efecto del segundo estímulo en la neurona postsináptica ocurrirá antes de que haya finalizado el efecto del estímulo anterior, y ambos se sumarán, dando como resultado un cambio en el potencial de membrana mayor que el que se hubiera logrado con cada uno de los estímulos por separado (Figura 5.13).

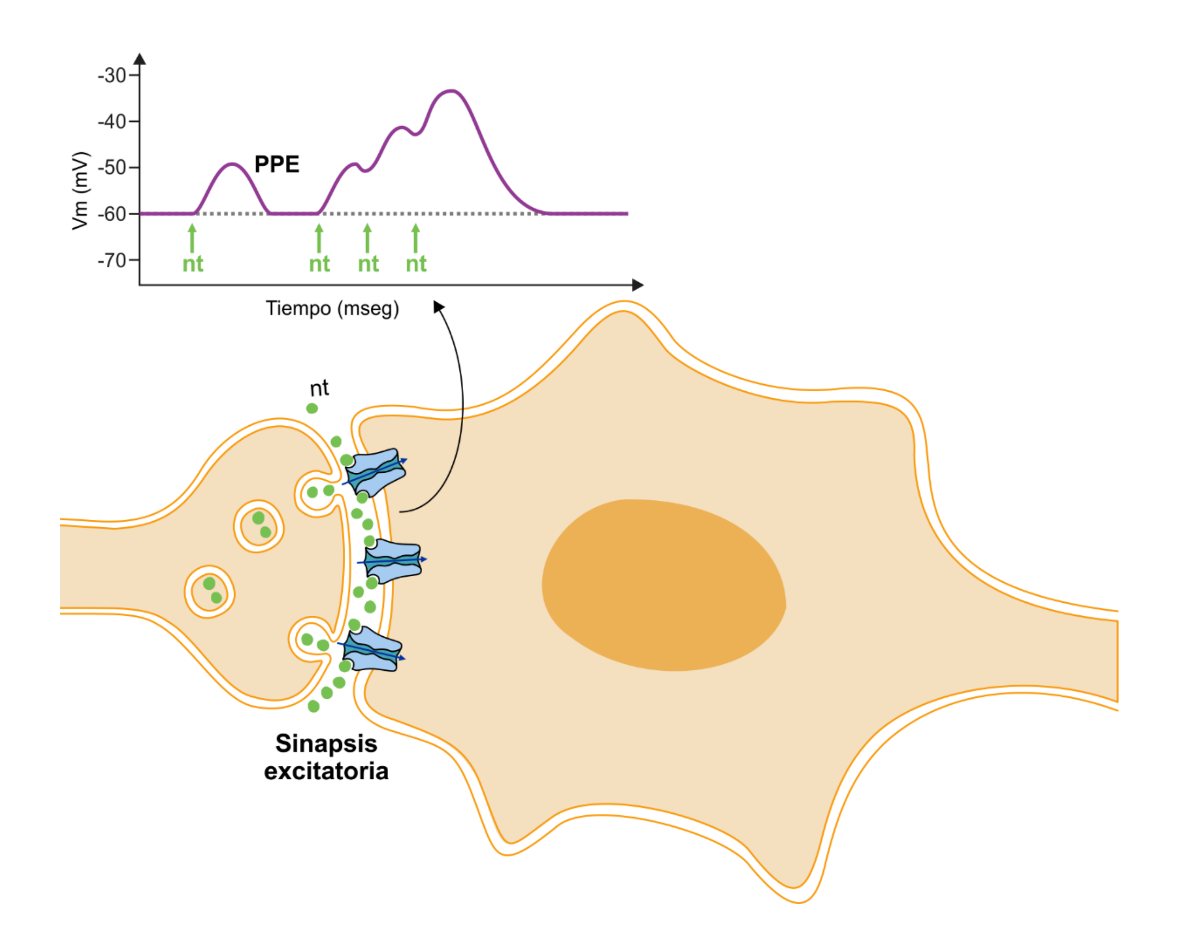


Figura 5.13: Suma temporal de potenciales postsinápticos: las despolarizaciones producidas por un neurotransmisor con efecto excitatorio pueden sumarse si se produce una nueva llegada de neurotransmisor excitatorio antes de que el V_m regrese al valor de reposo.

La **suma espacial** de los potenciales postsinápticos resulta de la acumulación de los efectos causados por distintas neuronas presinápticas que, al mismo tiempo, liberan neurotransmisores que actúan sobre diferentes receptores. El cambio de potencial de membrana generado por la llegada de un neurotransmisor a su receptor (es decir, el potencial postsináptico) puede propagarse mediante corrientes electrotónicas (con atenuación) hacia sitios adyacentes de la membrana. Lo mismo ocurrirá con cada potencial postsináptico debido a cada uno de los diferentes neurotransmisores que llegan a la célula en un momento dado. Entonces, en cualquier sector de la membrana del soma de la neurona, los efectos de las diferentes corrientes despolarizantes e hiperpolarizantes se integrarán, dando como resultado cambios en el potencial de la membrana que serán la resultante de dicha integración en el tiempo y en el espacio (Figura 5.14).

Los potenciales postsinápticos despolarizantes en las dendritas o en el soma de la neurona contribuirán a llevar al potencial de la membrana en el cono axónico hacia valores más despolarizados que en el reposo, y por lo tanto más cercanos al potencial umbral, haciendo más probable que la neurona postsináptica dispare uno o más potenciales de acción. En consecuencia, a los potenciales postsinápticos despolarizantes se los denomina potenciales postsinápticos excitatorios (PPEs), y a las neuronas presinápticas que secretan neurotransmisores que generan estos PPEs se las consi-

dera neuronas excitatorias. Por lo contrario, los potenciales postsinápticos hiperpolarizantes en las dendritas o en el soma de la neurona contribuirán a llevar al potencial de la membrana en el cono axónico hacia valores más hiperpolarizados que en el reposo, y por lo tanto más lejanos al potencial umbral, haciendo menos probable que la neurona postsináptica dispare un potencial de acción. En consecuencia, a los potenciales postsinápticos hiperpolarizantes se los denomina potenciales postsinápticos inhibitorios (PPIs), y a las neuronas presinápticas que secretan neurotransmisores que generan estos PPIs se las considera neuronas inhibitorias.

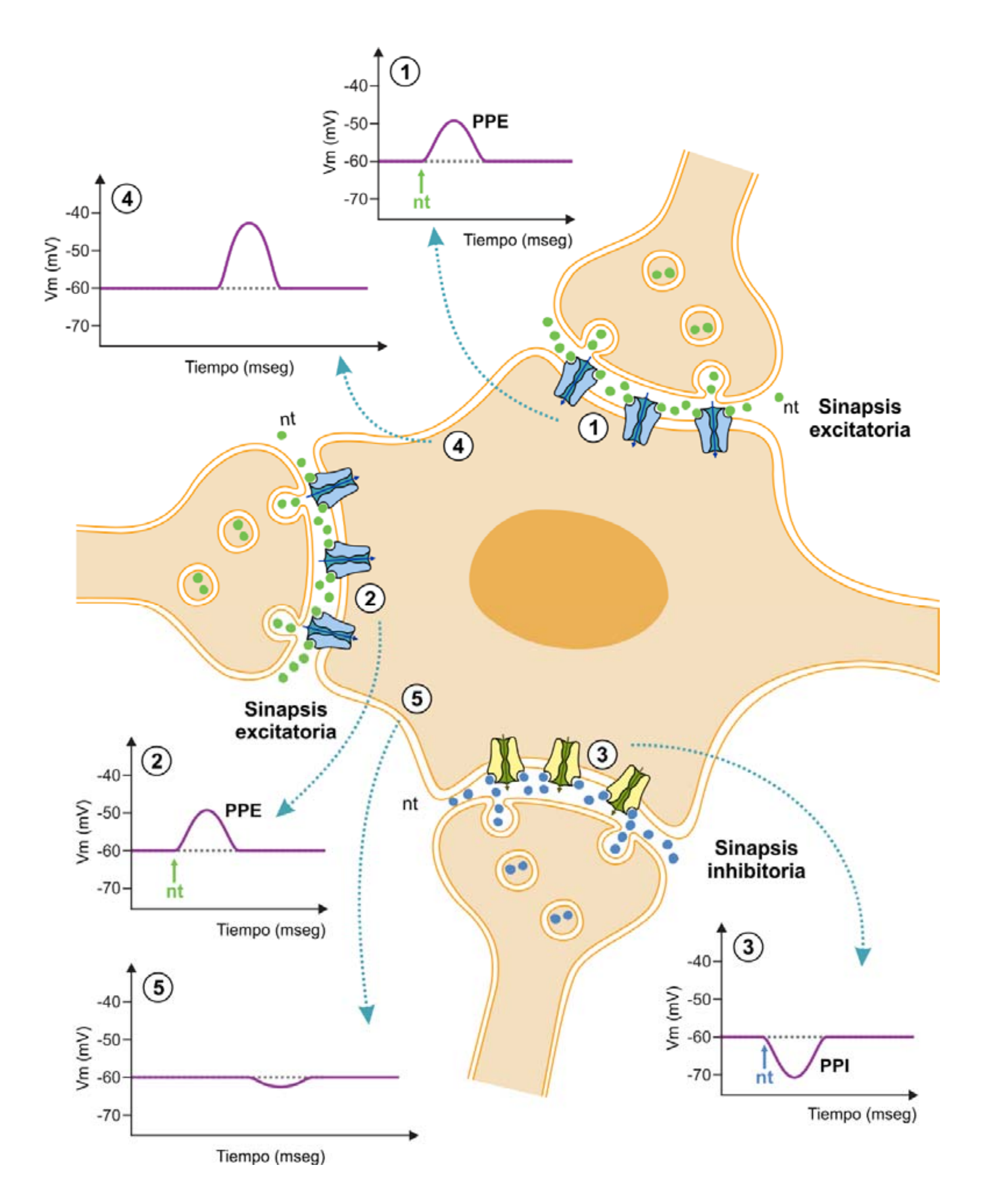


Figura 5.14: Suma espacial de los potenciales postsinápticos: la llegada de neurotransmisor excitatorio a las regiones (1) y (2) genera despolarizaciones que se propagan y se suman generando una mayor despolarización de la membrana en la región (4); la llegada de neurotransmisor excitatorio a la región (2) y neurotransmisor inhibitorio a la región (3) generan cambios de signo opuesto en el V_m que se propagan y se suman en la región (5) anulándose parcialmente.

Es importante destacar que los neurotransmisores no son *per se* excitatorios o inhibitorios, sino que el hecho de que una sinapsis sea excitatoria o inhibitoria está dado por el tipo de receptores que dichos neurotransmisores activan y el tipo de canal iónico que cambia su probabilidad de apertura en consecuencia.

Como se mencionó en el capítulo 3, los potenciales de acción son "a todo o nada". Si el potencial de membrana en el cono axónico no llega al potencial umbral, no se generará un potencial de acción (Figura 5.15A). En cambio, siempre que el potencial de membrana del cono axónico de la neurona llegue al potencial umbral, se generarán uno o más potenciales de acción con la misma magnitud y la misma duración (Figura 5.15B). El potencial de acción se propagará por el axón y llegará hasta la terminal axónica, donde generará una despolarización que permitirá la entrada de Ca^{+2} y la consiguiente liberación del neurotransmisor.

La codificación que correlaciona la magnitud de las señales recibidas por la neurona postsináptica con la cantidad de neurotransmisor que ésta libera está dada a nivel de la frecuencia de potenciales de acción que se genera en la neurona postsináptica. Es decir, si bien siempre que se supere el potencial umbral se generarán potenciales de acción iguales, cuanto mayor sea la magnitud con la que se supera el potencial umbral en el cono axónico, más potenciales de acción iguales se generarán por unidad de tiempo. Esto conducirá a mayores despolarizaciones de la terminal axónica, una mayor entrada de Ca^{2+} y una liberación de mayor cantidad de neurotransmisor (Figura 5.16).

En resumen, en una **sinapsis excitatoria** la neurona presináptica libera un neurotransmisor que, al unirse a su receptor en la neurona postsináptica, genera un cambio en la probabilidad de apertura de un canal que produce una **despolarización transitoria de la membrana (PPE)**. Este PPE hace que sea más fácil superar el potencial umbral en el cono axónico de la neurona, lo cual a su vez ocasiona que se generen potenciales de acción a mayor frecuencia en la neurona postsináptica. Este **aumento en la frecuencia de potenciales de acción** conduce a un mayor ingreso de Ca^{2+} en la terminal axónica y por consiguiente a la **liberación de una mayor cantidad de neurotransmisor** por parte de la neurona postsináptica. Por otra parte, en una **sinapsis inhibitoria** la neurona presináptica libera un neurotransmisor que, al unirse a su receptor en la neurona postsináptica, genera un cambio en la probabilidad de apertura de un canal que produce una **hiperpolarización transitoria de la membrana (PPI)**. Este PPI hace que sea más difícil superar el potencial umbral en el cono axónico de la neurona, lo cual a su vez ocasiona que se generen potenciales de acción a menor frecuencia (o que no se generen potenciales de acción en absoluto) en la neurona postsináptica. Esta **disminución en la frecuencia de potenciales de acción** conduce a un menor ingreso de Ca^{2+} en la terminal axónica y por consiguiente a la **liberación de una menor (o nula) cantidad de neurotransmisor** por parte de la neurona postsináptica.

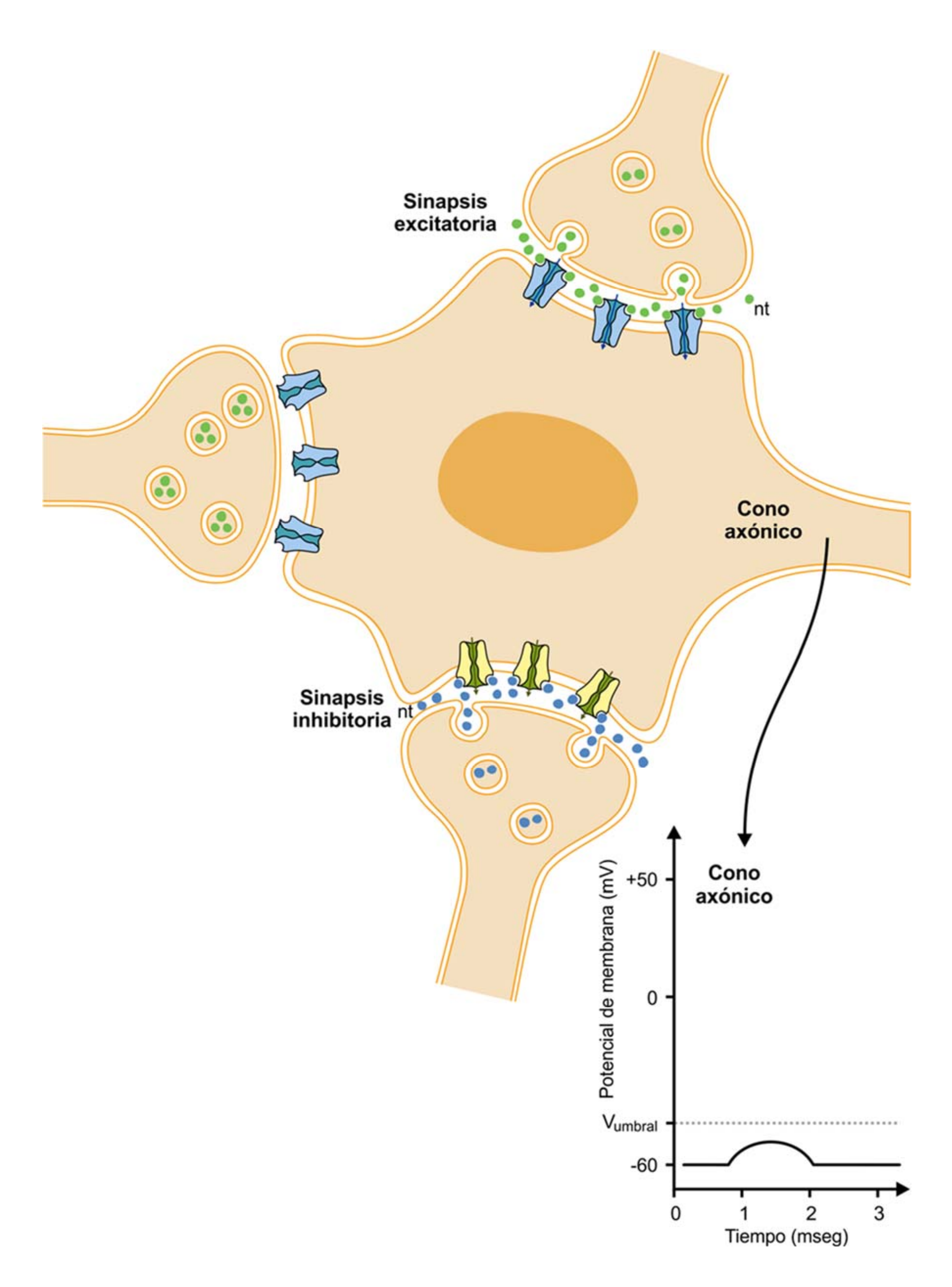


Figura 5.15A: liberación de nt por una neurona excitatoria y otra inhibitoria y combinación de los respectivos efectos despolarizantes e hiperpolarizantes en el cono axónico, haciendo que el V_m en el cono axónico no alcance el valor del V_{umbral} y, por lo tanto, no se genere un potencial de acción.

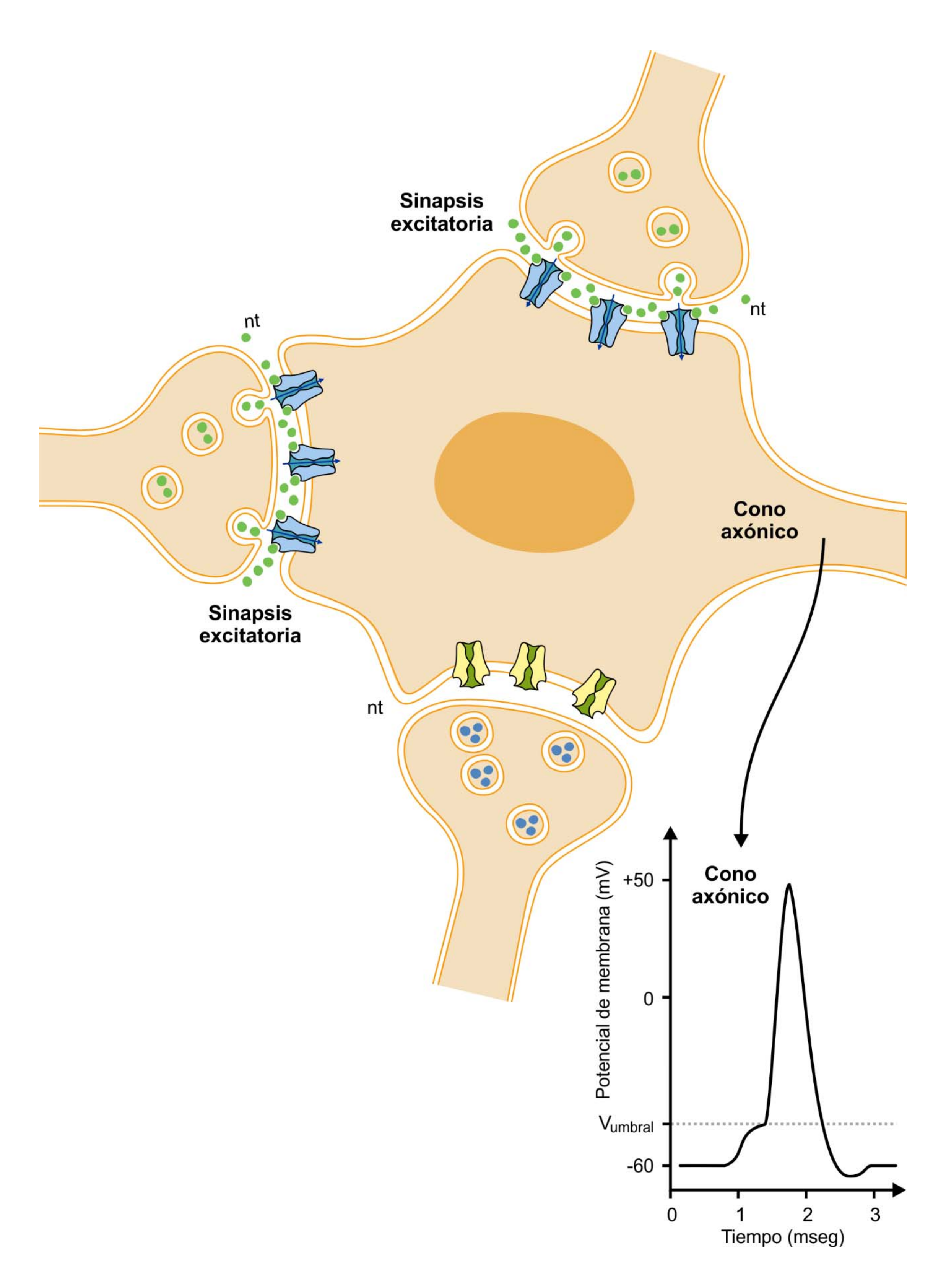


Figura 5.15B: Liberación de nt por dos neuronas excitatorias y combinación de los respectivos efectos despolarizantes en el cono axónico, haciendo que el V_m en el cono axónico alcance el valor del V_{umbral} y, por lo tanto, se genere un potencial de acción.

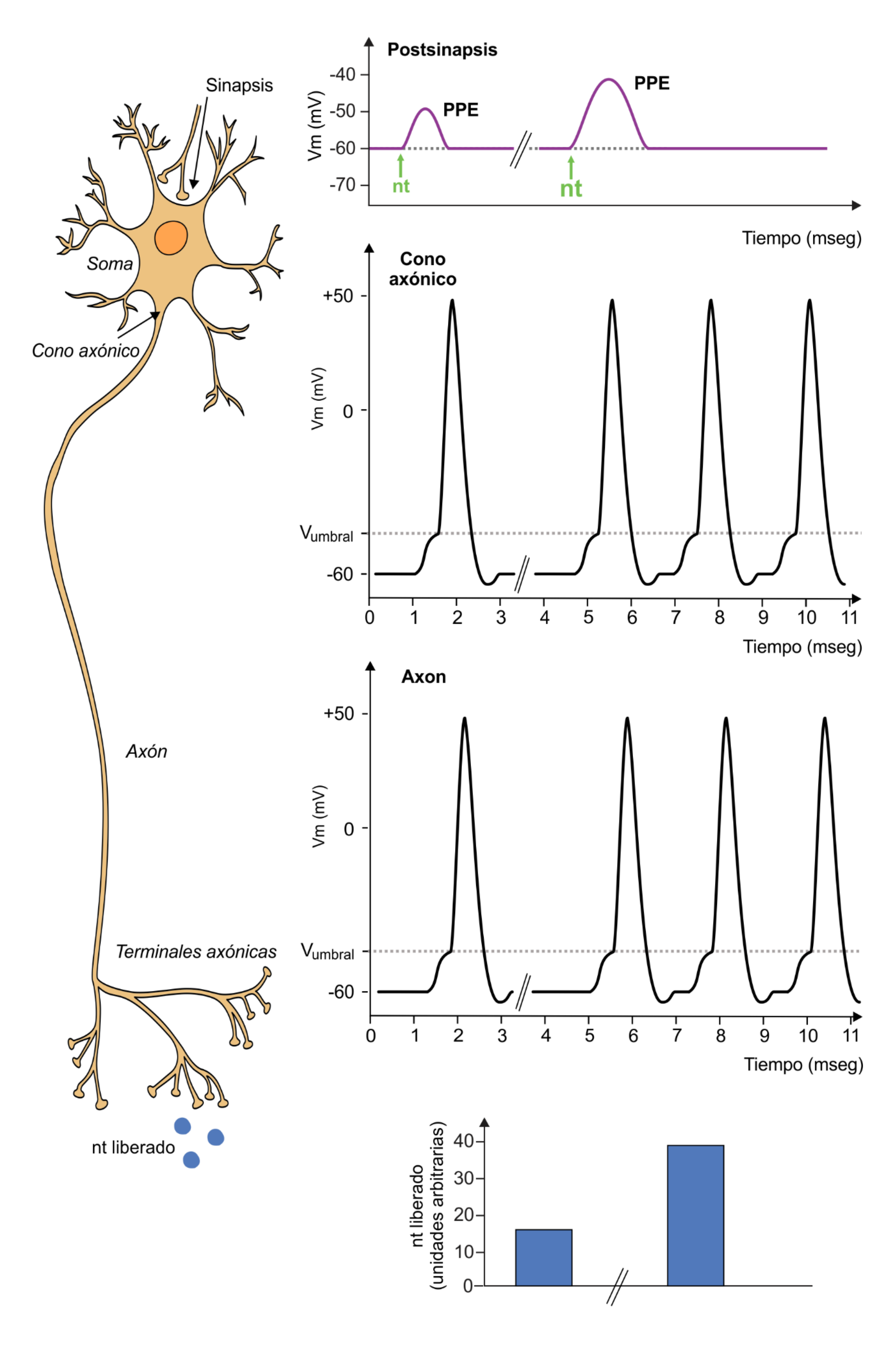


Figura 5.16: Relación entre magnitud de la señal sináptica, magnitud del potencial postsináptico, frecuencia de potenciales de acción y cantidad de neurotransmisor liberado.

5.4.2 Sinapsis entre una neurona y la terminal axónica de otra neurona

Además de las sinapsis axón-dendrita y axón-soma que describimos previamente, las neuronas postsinápticas pueden recibir sinapsis químicas a nivel de su terminal axónica (sinápsis axo-axónicas). Estas sinapsis funcionan de manera similar a las descriptas en el apartado anterior, con un neurotransmisor que se une a un receptor, cambia la probabilidad de apertura de un canal y se genera una pequeña despolarización o hiperpolarización de la membrana (PPE o PPI). La principal diferencia radica en que esta modificación del potencial de membrana, al ocurrir en su terminal axónica, no tiene efecto sobre la frecuencia de potenciales de acción generados en el cono axónico, sino que afecta directamente la probabilidad de apertura de los canales de Ca^{2+} operados por voltaje de dicha terminal y por ende a la cantidad de neurotransmisor que se libera.

De esta manera, en una sinápsis axo-axónica, una neurona presináptica excitatoria es aquella que libera un neurotransmisor que, al unirse a su receptor en la terminal axónica de la neurona postsináptica, genera una despolarización de la membrana en esta región, aumentando la probabilidad de apertura de los canales de Ca^{2+} operados por voltaje. Esto lleva a un aumento en la corriente entrante de Ca^{2+}, lo cual a su vez genera un aumento en la concentración citoplasmática de Ca^{2+} en la terminal axónica y un aumento en la secreción de neurotransmisor por parte de la neurona postsináptica. Por lo contrario, una neurona presináptica inhibitoria es aquella que libera un neurotransmisor que, al unirse a su receptor en la terminal axónica de la neurona postsináptica, genera una hiperpolarización de la membrana en esta región, disminuyendo la probabilidad de apertura de los canales de Ca^{2+} operados por voltaje. Esto genera una disminución de la corriente entrante de Ca^{2+}, lo cual genera un descenso en la concentración citoplasmática de Ca^{2+} en la terminal axónica y una disminución en la secreción de neurotransmisor por parte de la neurona postsináptica (Figura 5.17).

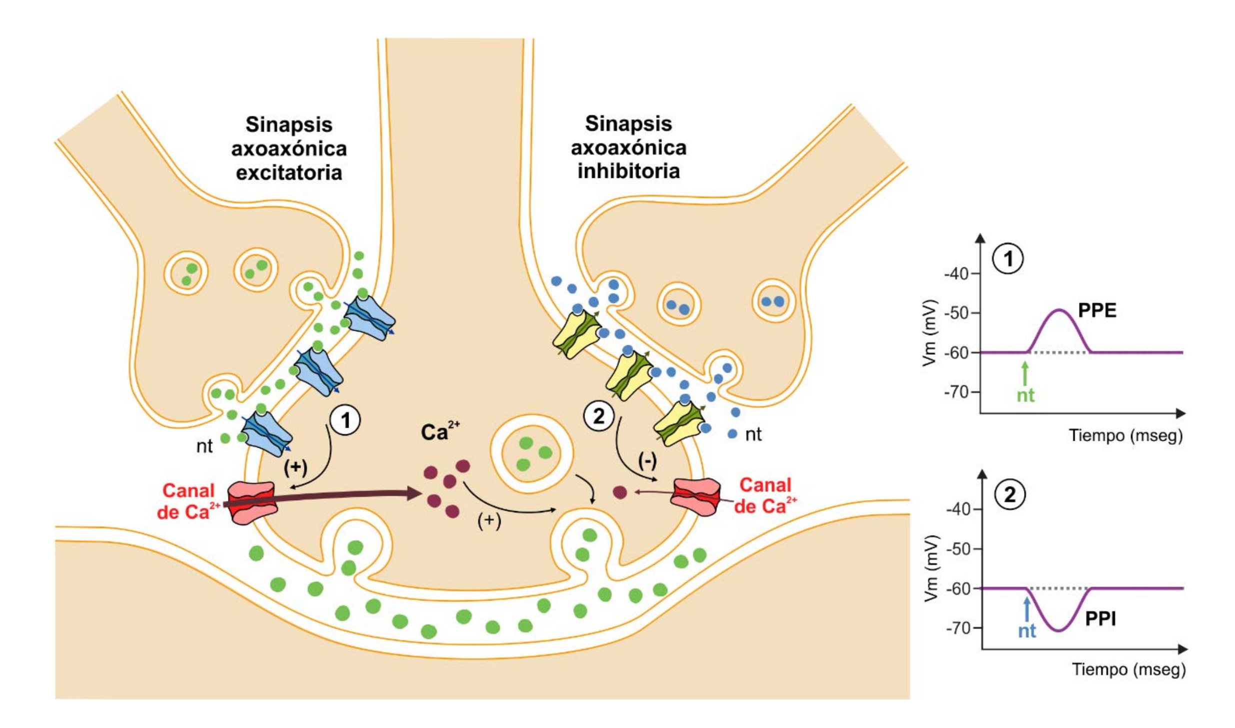


Figura 5.17: Sinapsis axo-axónica: (1) excitatoria, despolariza, entra más calcio, hay mayor exocitosis de neurotransmisor; (2) inhibitoria, hiperpolariza, entra menos calcio, hay menor exocitosis de neurotransmisor.

5.4.3 Sinapsis neuromuscular

En los vertebrados, el único estímulo para la contracción del músculo esquelético es la llegada de una señal química desde una neurona. Cada célula de músculo esquelético recibe un único contacto sináptico de una neurona motora (llamada también motoneurona) cuyo soma se encuentra en el sistema nervioso central.

El neurotransmisor secretado por la motoneurona es acetilcolina. La acetilcolina es sintetizada en la terminal axónica de la motoneurona, almacenada en vesículas y liberada al espacio sináptico mediante exocitosis en respuesta al aumento en la concentración de Ca^{2+} en dicha terminal. El aumento del Ca^{2+} citoplasmático ocurre, a su vez, en respuesta a la despolarización causada por los potenciales de acción que llegan por el axón de la motoneurona.

La sinapsis entre la motoneurona y la célula de músculo esquelético ocurre en una región de la membrana citoplasmática de la célula muscular llamada placa neuromuscular. En esta región existe una elevada cantidad de receptores para acetilcolina. En el músculo esquelético los receptores de acetilcolina son receptores de tipo canal iónico, llamados **receptor nicotínico de acetilcolina**, porque también son estimulados por la nicotina. Estos receptores canal iónico actúan como canales catiónicos inespecíficos que dejan pasar tanto Na^+ como K^+, y cuya probabilidad de apertura es casi cero en ausencia de acetilcolina y aumenta significativamente al unirse a la acetilcolina. Aunque en estos canales la conductancia para Na^+ y para K^+ es similar, la fuerza impulsora para la entrada de Na^+ es mucho mayor que la fuerza impulsora para la salida de K^+, por lo que cuando el canal se abre predomina la corriente despolarizante de Na^+, lo cual provoca una despolarización transitoria de la membrana en la placa neuromuscular. A

este potencial postsináptico despolarizante (PPE) que ocurre en la sinapsis neuromuscular se lo denomina potencial de placa.

En las regiones adyacentes a la placa neuromuscular, la célula de músculo esquelético tiene canales de Na^+ y de K^+ operados por voltaje, y si la despolarización que ocurre en la placa neuromuscular es suficientemente grande, se generan corrientes electrotónicas despolarizantes desde la placa hacia las regiones adyacentes en reposo llevando el potencial de la membrana al potencial umbral y generando así un potencial de acción en la membrana de la célula muscular. Los potenciales de acción se propagan sin atenuación por toda la membrana de la célula de músculo esquelético, llevando el estímulo despolarizante originado en la sinapsis por la llegada del neurotransmisor, hasta regiones distantes de la célula muscular (Figura 5.18).

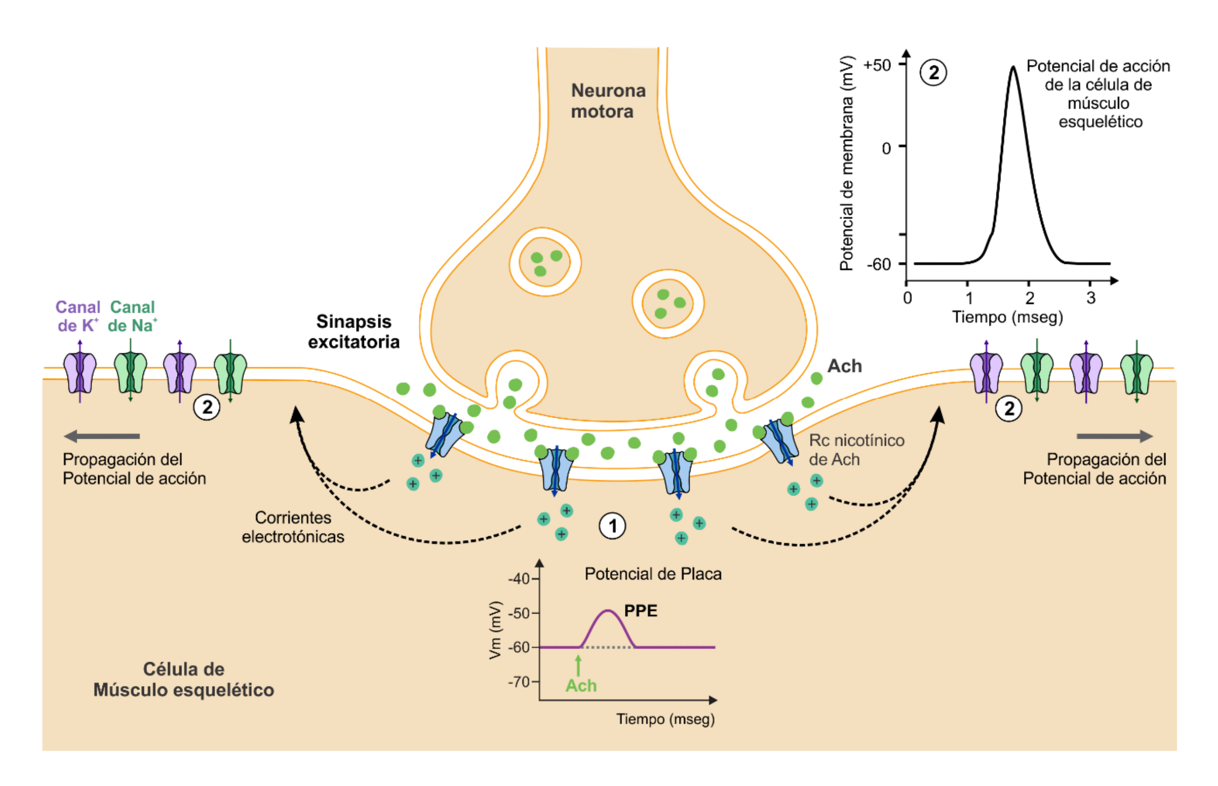


Figura 5.18: Sinapsis neuromuscular

La señal intracelular para la contracción de la célula de músculo esquelético es un aumento de la concentración citoplasmática de Ca^{2+}, que proviene principalmente de los depósitos intracelulares en el retículo endoplásmico (RE). La apertura de los canales del RE que permiten la salida de Ca^{2+} al citoplasma está acoplada mecánicamente a la apertura de canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje presentes en la membrana citoplasmática en la región de los túbulos T de la célula muscular.

En algunos músculos esqueléticos de gran tamaño, las células musculares pueden tener varios centímetros de longitud, pero la señal para contraerse es recibida desde la motoneurona en una única región de unos pocos micrómetros cuadrados. Por lo tanto, la generación de potenciales de acción en las inmediaciones de la placa neuromuscular y su propagación sin ate-

nuación es fundamental para que el estímulo despolarizante que genera la acetilcolina pueda alcanzar los túbulos T, activar los canales de Ca^{2+} operados por voltaje y así estimular la salida de Ca^{2+} desde el RE que desencadena la contracción muscular.

En el espacio sináptico de la sinapsis neuromuscular hay una gran cantidad de moléculas de la enzima acetilcolinesterasa, que hidroliza la acetilcolina que es liberada por la motoneurona. De este modo, las moléculas de acetilcolina secretadas por la motoneurona que difunden en el espacio sináptico activan los receptores colinérgicos y son degradadas por la acetilcolinesterasa, que elimina rápidamente los neurotransmisores presentes en el espacio sináptico contribuyendo al cese de la señal y a la posterior relajación de la célula muscular.

5.4.4 Sinapsis entre una neurona del sistema nervioso autónomo y una célula efectora

El sistema nervioso autónomo regula la actividad del músculo cardíaco, el músculo liso, las glándulas exocrinas y algunas células endocrinas. Las neuronas postganglionares del sistema nervioso autónomo hacen sinapsis con diferentes células efectoras y liberan neurotransmisores (acetilcolina o noradrenalina principalmente) que actúan sobre receptores metabotrópicos ubicados en las células postsinápticas. Para cada neurotransmisor, los receptores pueden estar acoplados a proteínas Gs, Gq o Gi, dependiendo de la célula efectora, por lo que un mismo tipo de neurotransmisor puede activar diferentes vías de señalización en células diferentes. A su vez, el efecto que tenga la activación de una vía de señalización intracelular dada en la célula postsináptica dependerá del tipo de procesos celulares que dicha célula pueda llevar a cabo.

Como se mencionó en el capítulo 4, la unión del ligando al receptor metabotrópico puede hacer que la proteína G activada modifique de manera directa la probabilidad de apertura de un canal iónico; que la proteína G activada active a su vez a una enzima de membrana que sintetice un segundo mensajero, y que este segundo mensajero modifique la probabilidad de apertura de un canal o que el segundo mensajero active una enzima quinasa que fosforile un canal y cambie su probabilidad de apertura. Estos eventos de cambio de probabilidad de apertura de canales provocarán a su vez cambios en el potencial de membrana de la célula efectora (potencial postsináptico). Estos cambios en el potencial de membrana podrían generar, además, cambios en la probabilidad de apertura de canales de Ca^{2+} operados por voltaje, con el consiguiente cambio en la concentración intracelular de Ca^{2+}.

Un aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} causará diferentes efectos en la actividad de las diferentes células efectoras: aumentará la fuerza de contracción del músculo cardiaco y del músculo liso, aumentará la exocitosis en las células exócrinas secretoras de enzimas y aumentará la exocitosis de hormonas en las células endócrinas. Un descenso en la concentración intracelular de Ca^{2+} causará los efectos contrarios.

5.4.5 Atenuación de la señal en la sinapsis

El proceso de atenuación de la señal es un evento fundamental para el correcto funcionamiento sináptico. Si un neurotransmisor persistiera en el espacio sináptico produciría una estimulación sostenida sobre la célula postsináptica.

La atenuación de la señal puede llevarse a cabo mediante la inhibición de la liberación del neurotransmisor en la célula presináptica, mediante la eliminación del neurotransmisor del espacio sináptico, mediante la inactivación o sensibilización de los receptores o por endocitocis de los receptores del neurotransmisor en la célula postsináptica (figura 5.19).

En algunas sinapsis, el neurotransmisor liberado posee receptores en la propia membrana de la célula presináptica. La activación de estos receptores por parte del neurotransmisor produce cambios en la terminal sináptica (por ejemplo hiperpolarización o inhibición de los canales de Ca^{2+}) que inhiben la exocitosis de más neurotransmisor.

La atenuación de la señal mediante la remoción del neurotransmisor se produce fundamentalmente por tres vías:

- Difusión: las moléculas de neurotransmisor liberadas difunden fuera del espacio sináptico y, una vez que están fuera del alcance del receptor, pierden la capacidad de interacción y de producir su efecto.
- Degradación enzimática: los neurotransmisores pueden ser inactivados por enzimas presentes en el espacio sináptico (p. ej. la enzima acetilcolinesterasa que hidroliza a la acetilcolina en la sinapsis neuromuscular)
- Recaptación celular: los neurotransmisores pueden ser transportados de forma activa (por transportadores específicos) hacia el interior de la neurona de la cual fue liberado o hacia las células de la glía en el sistema nervioso.

En muchos receptores se observa que luego de su activación, los mismos se sensibilizan a la señal y atenuan su respuesta aún en presencia del neurotransmisor. Además, en algunas células postsinápticas la estimulación sostenida del neurotransmisor, activa vías de señalización que conducen a la internalización de los receptores presentes en la membrana, disminuyendo la sensibilidad de la célula postsináptica al neurotransmisor.

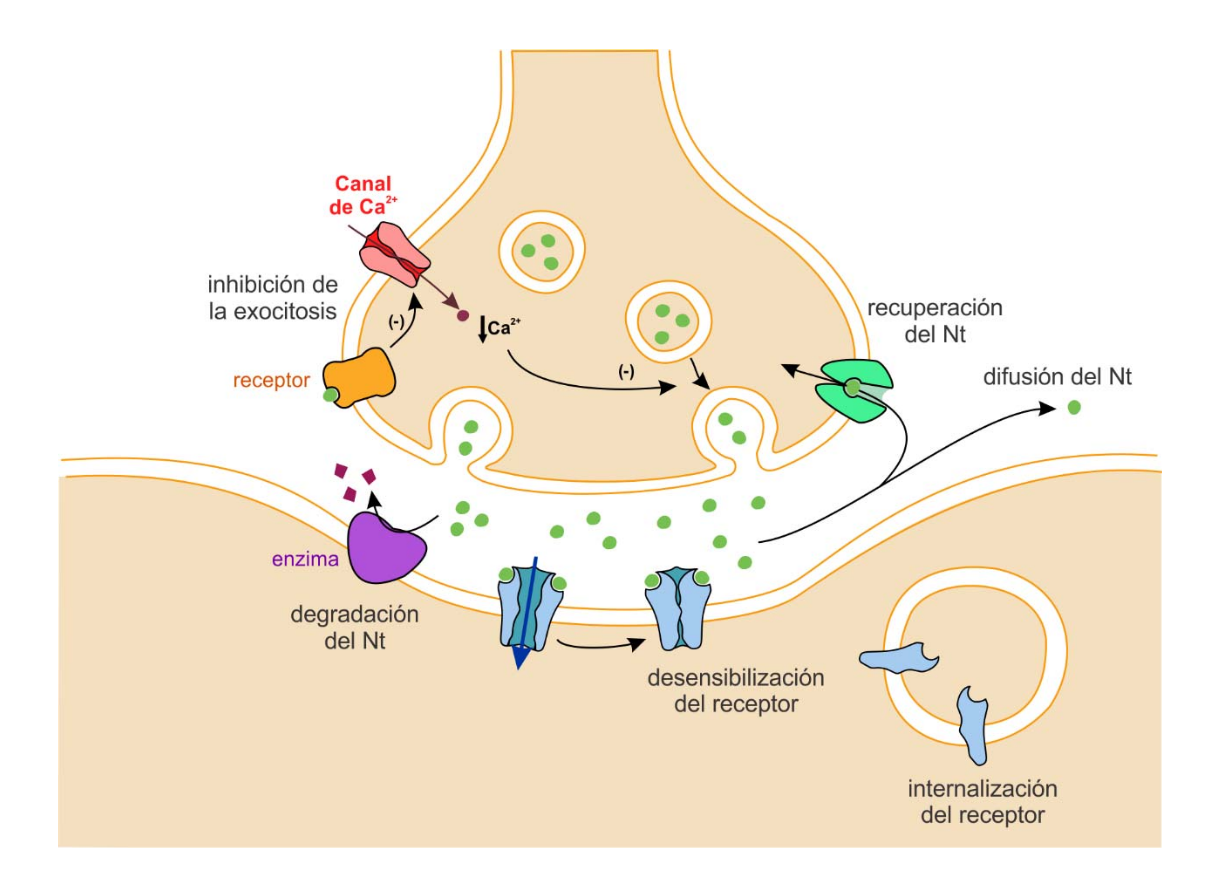


Figura 5.19: Atenuación de la señal en la sinapsis

5.5 Comunicación mediante señales químicas secretadas al medio extracelular que actúan sobre células alejadas: señalización endocrina

En la señalización endocrina, una célula secreta una sustancia al medio extracelular y esta sustancia pasa a la circulación sanguínea y luego es distribuida por la sangre a todo el organismo, ejerciendo su acción sobre células distantes. A las sustancias que se utilizan en este tipo de señalización se las denomina "hormonas". Para que la actividad de una célula sea modificada por la acción de una hormona, es necesario que dicha célula tenga receptores para la hormona.

Las hormonas, al igual que los neurotransmisores, pueden ser de diferente naturaleza química (derivados de aminoácidos, péptidos, proteínas, derivados del colesterol). Dependiendo de la naturaleza química de la hormona, tendrá diferentes mecanismos de secreción, diferentes maneras de viajar en la sangre y diferentes ubicaciones celulares de sus receptores (Tabla 1).

Las hormonas que derivan de aminoácidos individuales (p. ej. adrenalina, que deriva de la tirosina), las hormonas peptídicas y las hormonas proteicas, luego de ser sintetizadas se almacenan en vesículas y se secretan mediante exocitosis, en un proceso dependiente del aumento del Ca^{+2} intracelular (de manera similar a lo descripto en la sección 5.4 para los neurotransmisores). Estas hormonas viajan en la sangre de forma libre (no asociadas a proteínas) y requie-

ren receptores ubicados en la membrana citoplasmática de la célula, ya que por su elevada hidrofilicidad tienen muy baja permeabilidad en la membrana.

De manera análoga a lo descripto para algunos neurotransmisores, los receptores de las hormonas hidrofílicas son, receptores acoplados a proteína G (Gs, Gi, Gq) o receptores con actividad enzimática propia. Como este tipo de respuestas implica cambios en la activación de cascadas de señalización y aumento de segundos mensajeros, suelen ser respuestas que se establecen en pocos minutos. El tiempo de vida media de estas hormonas es de unos pocos minutos.

Por otra parte, las hormonas que derivan del colesterol ("hormonas esteroideas") son liposolubles, por lo que no pueden almacenarse en vesículas intracelulares. Su secreción está regulada a nivel de la síntesis, y una vez sintetizadas salen de la célula por difusión simple. Se transportan en la sangre asociadas a proteínas de unión específicas, o a la albúmina. Es por esto que su vida media es mayor que en el caso de las hormonas peptídicas, alrededor de 60-90 minutos. Debido a su capacidad de atravesar libremente la membrana celular, pueden tener receptores intracelulares.

Los receptores intracelulares de hormonas esteroideas tienen dominios de unión al ADN, y estas hormonas ejercen la mayor parte de sus acciones a través de la regulación de la transcripción de diferentes genes que codifican para proteínas celulares. Como la manifestación del efecto de la hormona esteroidea requiere de los procesos de transcripción y traducción de nuevas proteínas, la respuesta a este tipo de hormonas en general se desarrolla de manera más lenta y es más duradera.

HORMONAS PEPTÍDICAS	**HORMONAS ESTEROIDEAS**
Se sintetizan en RER y complejo de Golgi y se almacenan en vesículas. Secreción regulada a nivel de la exocitosis.	Se sintetizan en REL. Secreción regulada a nivel de la síntesis, ya que no pueden ser almacenadas en vesículas.
Viajan en sangre de manera libre.	Viajan en sangre unidas a proteínas.
Se unen a receptores de membrana citoplasmática.	Se unen a receptores intracelulares.
Activan vías de señalización intracelular con cascadas de segundos mensajeros.	Modifican la transcripción de genes.
En general modifican la actividad de proteínas ya existentes.	En general inducen la síntesis de nuevas proteínas.
Tiempo de acción corto (pocos minutos)	Tiempo de acción largo (90 min)
Tiempo de vida media corto (minutos).	Tiempo de vida media largo (60-90 min).

Tabla 1. Comparación entre las principales características de las hormonas de naturaleza peptídica y esteroidea.

CAPÍTULO 6
Integración de los mecanismos celulares en funciones orgánicas complejas

Alejandro Rebolledo

En este capítulo utilizaremos los distintos conceptos discutidos en los capítulos anteriores para explicar cómo los mecanismos simples de la fisiología celular se integran y cumplen funciones complejas en diferentes organismos pluricelulares, desde invertebrados hasta mamíferos. De esta manera veremos cómo la comprensión de los fenómenos celulares nos permitirá entender los aspectos básicos del funcionamiento de órganos tales como los riñones, el intestino, las glándulas endócrinas, etc.

A continuación se abordarán mecanismos integrados presentes en diferentes órganos y sistemas.

6.1 Transporte a través de barreras epiteliales

Las células epiteliales tienen polarización de su membrana plasmática. Si bien las células son tridimensionales, para simplificar su análisis se representan en dos dimensiones (esquemas o cortes histológicos) de manera que una célula poliédrica se suele ver cuadrada o cilíndrica. En la figura 6.1 se esquematiza un epitelio simple (no estratificado), en el cual podemos describir diferentes regiones de la membrana plasmática: una cara de la membrana que llamamos apical, dos caras que llamamos laterales y una cara que llamamos basal. La cara api-

cal de la membrana, en muchos casos se orienta hacia una cavidad corporal, tal como la luz de un órgano hueco, mientras que la cara basal se define como la que es opuesta a la apical, y es la que se relaciona con la membrana basal en los epitelios no estratificados. Las dos caras laterales son equivalentes entre sí, y son las que contactan con las células vecinas. La distribución de las proteínas transportadoras de membrana, los receptores y los canales iónicos suele ser heterogénea: la membrana apical tiene un cierto tipo de transportadores y receptores, mientras que las membranas laterales y la basal tienen otros. Generalmente, las caras laterales y basal de la membrana se suelen agrupar bajo el nombre de cara basolateral de la membrana.

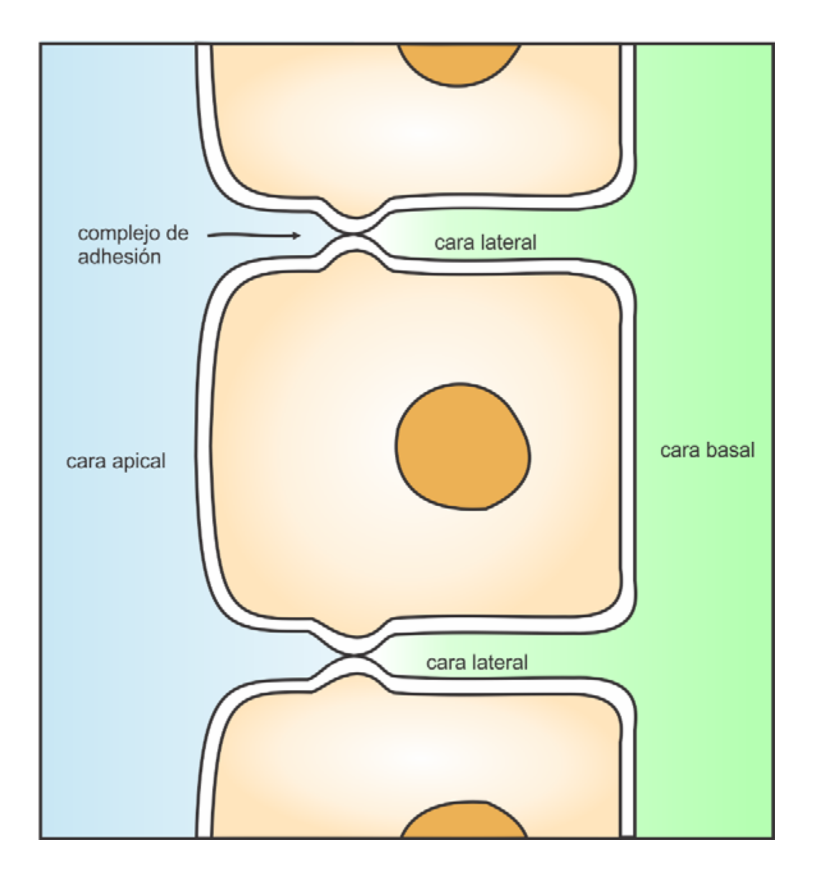


Figura 6.1: Representación esquemática de un epitelio simple

En un epitelio simple, los complejos de adhesión o unión entre las células vecinas se encuentran en las caras laterales de la membrana y limitan en distinto grado el pasaje de solutos o de solvente entre las células (difusión paracelular), pudiendo incluso ocurrir que los componentes del líquido extracelular que baña la cara basolateral de la célula, prácticamente no se mezclen con los del líquido que baña la cara apical. Según cuál sea la dificultad de difusión entre estos dos líquidos hablamos de epitelios cerrados (aquellos en donde la difusión paracelular es casi nula), de epitelios abiertos (aquellos en que los solutos pueden pasar con facilidad entre un líquido y otro), o de epitelios con características intermedias. Cabe aclarar que el grado de facilidad para la difusión paracelular varía según las propiedades de cada soluto, de for-

ma que la clasificación de los epitelios se realiza en función al grado de difusión global o promedio de los distintos solutos.

En el caso de solutos cargados, el análisis de la difusión paracelular debe tener en cuenta el grado de resistencia eléctrica que ofrece el epitelio para el pasaje de soluto entre el líquido basolateral y el líquido apical. Supongamos que un cierto ion difunde libremente entre distintas zonas del líquido basolateral o del líquido apical, pero difunde con restricciones a través de la ruta paracelular. Recordemos que cada vez que un ion se mueve entre una zona y otra de un líquido conductor se verifica una corriente eléctrica, por lo tanto si colocamos un electrodo en el líquido apical y otro en el basolateral podremos medir la corriente generada por ese ion al difundir por la ruta paracelular, y veremos que hay un cierto grado de resistencia eléctrica entre los dos líquidos debido a que al ion le es más difícil atravesar esa ruta que difundir libremente en cualquiera de los dos líquidos.

Una consecuencia importante de la presencia de una resistencia o dificultad al pasaje de solutos o solvente por la ruta paracelular de un epitelio es que el líquido basolateral y el líquido apical pueden tener composiciones distintas. Puede haber variaciones en las concentraciones de distintos solutos entre los dos líquidos, así como variaciones en la osmolaridad y en el potencial de membrana (potencial transepitelial). En resumen, un epitelio se puede considerar como una barrera entre dos compartimentos, a la que se le aplican todos los conceptos vistos en los capítulos anteriores: permeabilidad selectiva y capacidad de establecer una diferencia de potencial eléctrico entre la cara apical y la basolateral.

Una diferencia de potencial transepitelial se genera gracias al transporte vectorial (en una dirección determinada) de iones a través de un epitelio. Supongamos, por ejemplo, un epitelio que funciona como el de la Figura 6.2.

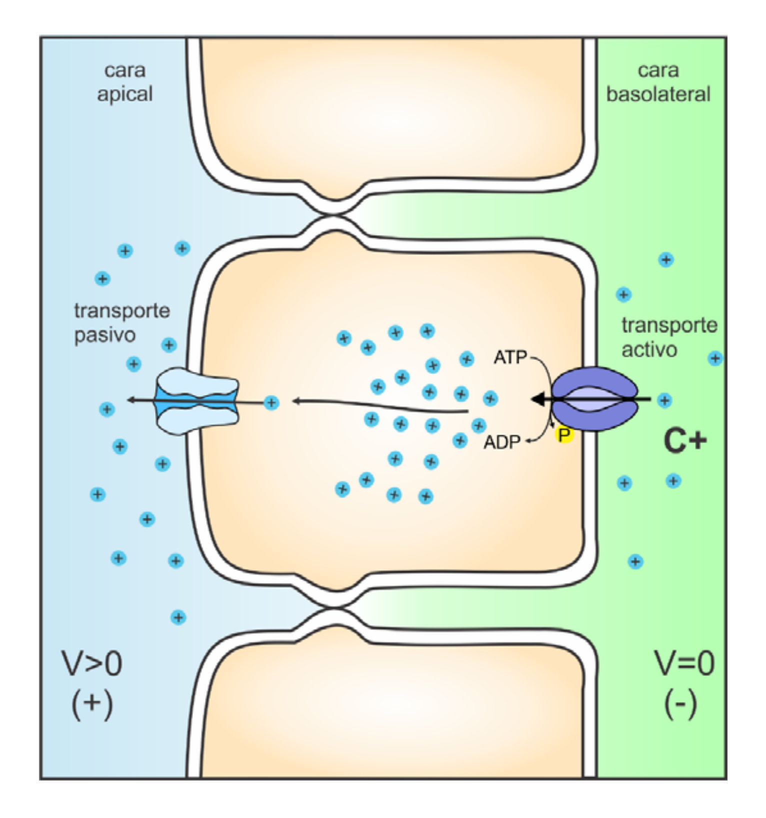


Figura 6.2: Representación del transporte transepitelial de un catión en un epitelio simple

Un transporte activo (primario o secundario) impulsa al catión C^+ en contra de su gradiente electroquímico hacia el interior celular a partir del líquido extracelular del espacio basolateral. Luego, C^+ sale de la célula a favor de su gradiente, pero exclusivamente a través de la membrana apical, hacia el líquido extracelular que la baña. El resultado es que C^+ atraviesa el epitelio "vectorialmente", desde el lado basal hacia el lado apical. Esto ocurre gracias a la asimetría en la ubicación de los transportadores: los de la membrana basolateral ingresan C^+ a la célula, y los de la membrana apical lo dejan salir. Podemos, entonces, pensar que hay una corriente eléctrica dada por el movimiento vectorial del catión C^+ que atraviesa el epitelio. La corriente genera una polarización eléctrica a los lados del epitelio que se denomina diferencia de potencial transepitelial. Si arbitrariamente fijamos el potencial del espacio basolateral como el potencial de referencia con valor cero, como lo que se mueve en este caso son sólo cargas positivas, la cara apical queda a un potencial más positivo que la basolateral. Para una dada resistencia epitelial, cuanto más intensa sea la corriente (o sea, la magnitud del transporte transcelular), más grande será la diferencia de potencial transepitelial.

Es importante destacar que si C^+ puede atravesar el epitelio también por vía paracelular, generará una corriente eléctrica adicional que podría ser en el mismo sentido que la corriente transcelular o en sentido opuesto. Por lo tanto, esta corriente contribuirá también al valor del potencial transepitelial.

Puede haber diferentes variantes a este esquema básico que también lleven a la generación de un potencial transepitelial:

- El transporte activo de C^+ podría estar localizado en la membrana apical sacando C^+ de la célula, y C^+ entraría a la célula desde el espacio basolateral a través de un transporte pasivo (esto implica que el gradiente de potencial electroquímico de C^+ entre el lado basal y el interior celular, es favorable a la entrada) (Figura 6.3).
- En lugar de transportarse vectorialmente un catión C^+, se podría transportar un anión A- desde el espacio basolateral hacia el apical usando cualquiera de las dos variantes descriptas de ubicación de los transportes activos y pasivos. La diferencia, en este caso, es que ahora la cara apical será negativa con respecto a la basolateral tomada como el valor de potencial de referencia igual a 0 (Figura 6.4).
- En lugar de transportarse un solo ion, podría haber movimiento de más de una especie cargada a través del epitelio, pero de manera tal que globalmente siguiera habiendo un transporte vectorial neto de carga. Ej: se mueven dos cationes distintos en igual sentido, o se mueven un anión y un catión en igual sentido, pero la magnitud del transporte de uno es mayor a la del otro, etc. En este caso, para un dado valor de resistencia epitelial, el valor y el signo del potencial transepitelial, dependerá del signo y la magnitud de la corriente neta resultante.

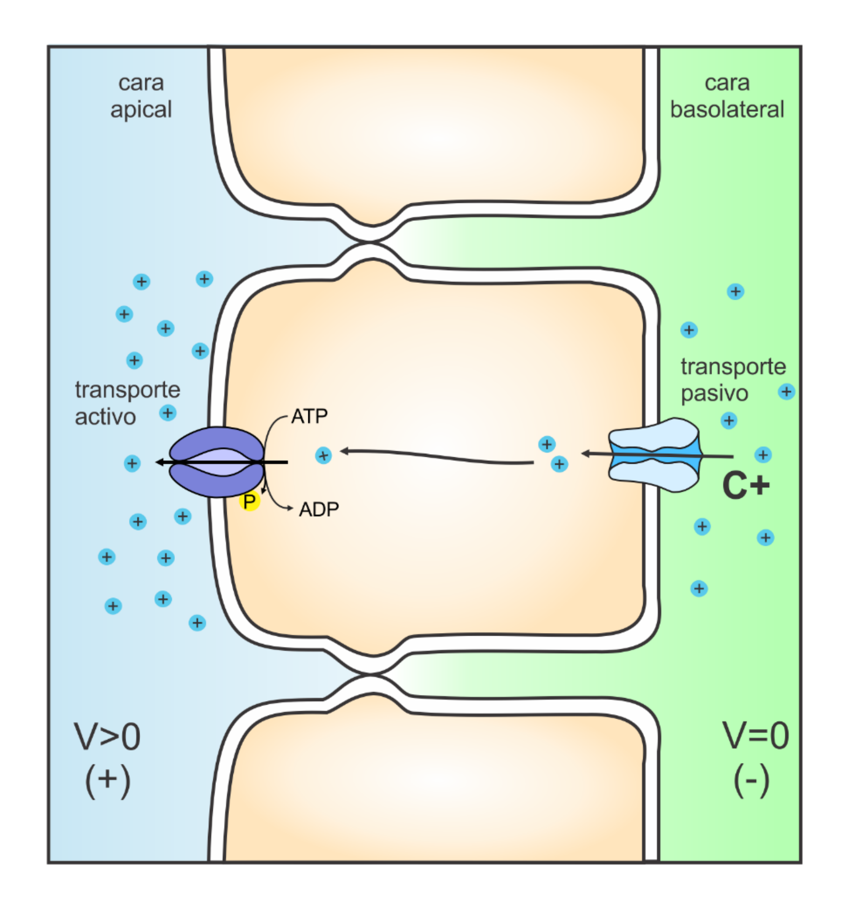


Figura 6.3: Representación del transporte transepitelial de un catión en un epitelio simple

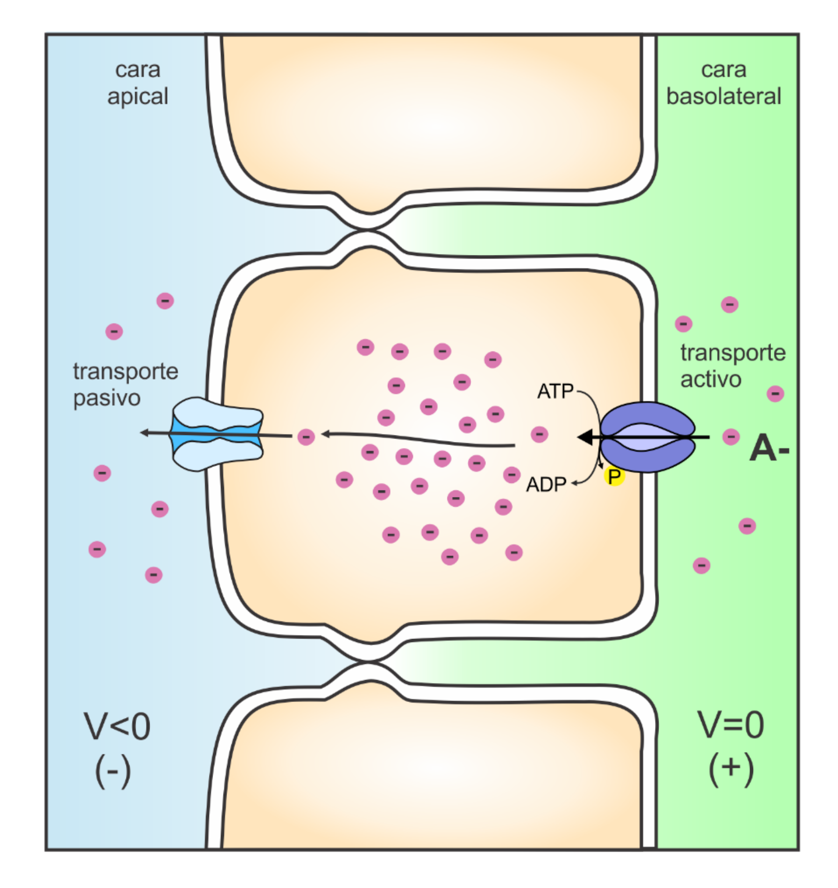


Figura 6.4: Representación del transporte transepitelial de un anión en un epitelio simple

Como se dijo anteriormente, es importante destacar que si los iones pueden atravesar el epitelio también por vía paracelular, generarán corrientes eléctricas adicionales que podrían ser en el mismo sentido que la corriente transcelular o en sentido opuesto. Por lo tanto, estas corrientes contribuirán también al valor del potencial transepitelial.

Todo el razonamiento que hemos realizado en este apartado se puede comparar con lo que se explicó en el capítulo 3 con respecto a la generación de un potencial de transmembrana en una célula. En ese caso, teníamos en cuenta las distintas corrientes iónicas que atravesaban la membrana, que eran las responsables de la aparición de una diferencia de potencial eléctrico entre el interior de la célula y el exterior, compatible con el modelo del potencial de difusión. Al pensar en un epitelio como una barrera que separa dos compartimentos, estamos en una situación análoga, que se puede asimilar a lo visto para la membrana plasmática. Ahora, en lugar de tener un líquido extracelular y uno intracelular, tenemos dos líquidos extracelulares, pero éstos están separados por una barrera que ofrece una cierta resistencia paracelular y transcelular al pasaje de solutos (cuanto más cerrado sea el epitelio, menor será el flujo paracelular de iones y más próxima es la analogía con la membrana plasmática). Entonces, si hay flujos de iones en forma vectorial a través del epitelio, podemos aplicar la idea de que éstos podrían producir una diferencia de potencial transepitelial.

Como en el caso del epitelio una gran parte del trayecto del ion puede ser a través del citosol de la célula (transcelular) y/o por una ruta en la que nunca entra a la célula (paracelular), la situación es mucho más compleja y los modelos matemáticos y las ecuaciones derivadas que se utiliza para predecir el potencial de membrana no pueden aplicarse al potencial transepitelial.

6.2 Movimiento de iones debido a diferencias de potencial transepitelial

La aparición de una diferencia de potencial transepitelial genera una nueva fuerza eléctrica que afecta el movimiento de los solutos cargados a través de la barrera epitelial. Por ejemplo, tomemos el epitelio del punto anterior, que realiza un transporte transcelular neto de C^+ desde el espacio basolateral hacia el apical, generando una diferencia de potencial transepitelial con el lado apical más positivo que el basolateral (Figura 6.3). Si este epitelio permite una cierta difusión de un anión A^- por la ruta paracelular, entonces, los aniones que están en el espacio basolateral experimentarán una fuerza eléctrica que favorece su pasaje hacia el lado apical, generada por ese campo eléctrico transepitelial. La sumatoria de la fuerza debida a la diferencia de concentración del anión A^- entre los dos espacios (si la hubiese) y la fuerza eléctrica debida al potencial transepitelial, generará un gradiente electroquímico para A^- que definirá la fuerza impulsora resultante para el movimiento de A^-. Si esta fuerza impulsora apunta hacia el espacio apical, entonces A^- se moverá pasivamente a través del epitelio por vía paracelular hacia el espacio apical.

Al fenómeno de transporte neto de solutos desde el lado basolateral al lado apical del epitelio se lo denomina **secreción**.

Por lo tanto, en el caso que estamos analizando, las características de las uniones intercelulares de este epitelio sumadas a la localización diferencial de transportadores activos y pasivos en las células que lo forman, determinaron la aparición de un epitelio secretor de AC (Figura 6.5).

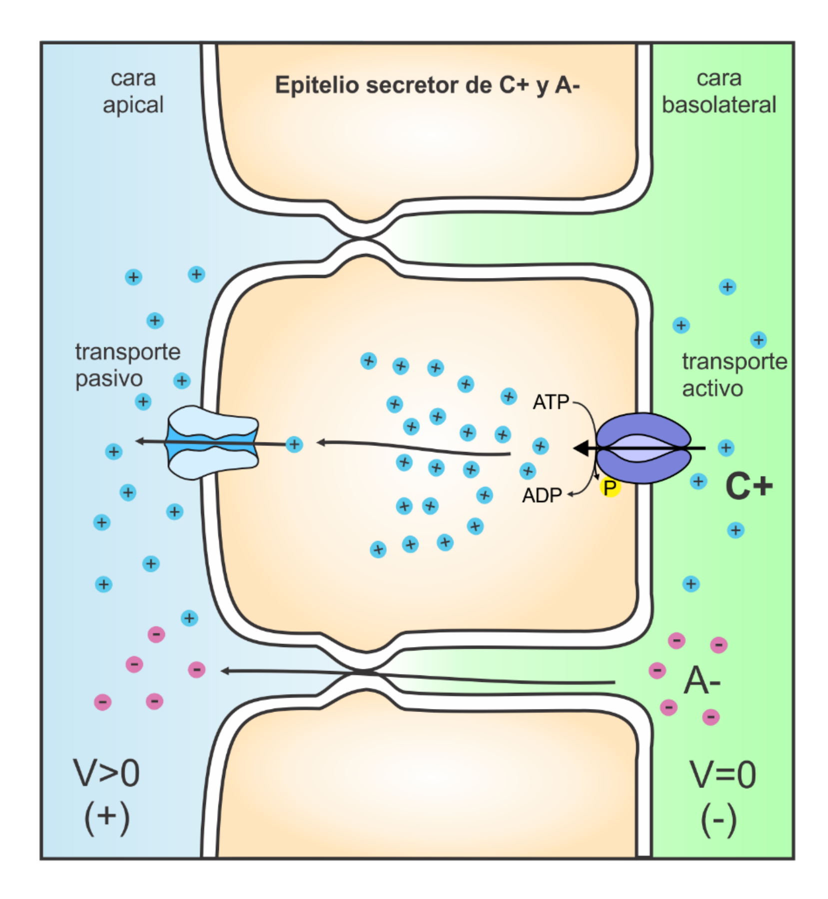


Figura 6.5: Representación del transporte transepitelial de un catión en un epitelio simple y del flujo de aniones que se produce por vía paracelular impulsado por la diferencia de potencial eléctrico. Epitelio secretor

Si los transportadores se ubicaran de otra manera, o el sentido de movimiento del catión C^+ fuera distinto, podríamos tener otras situaciones fisiológicas. Por ejemplo, en un epitelio que mantiene las propiedades de unión entre las células consideradas en el ejemplo anterior, pero donde el transporte activo basolateral saca a C^+ de la célula generando un gradiente electroquímico favorable a la entrada pasiva de C^+ desde la superficie apical hacia el interior celular, se generaría una diferencia de potencial transepitelial con el lado basolateral más positivo que el apical. Esto podría impulsar el movimiento paracelular transepitelial de A^- desde la cara apical del epitelio hacia el espacio basolateral.

Al fenómeno de transporte neto de solutos desde el lado apical al lado basolateral del epitelio se lo denomina **absorción**.

En este caso las características de las uniones intercelulares de este epitelio sumadas a la localización diferencial de transportadores activos y pasivos en las células que lo forman, determinaron la aparición de un epitelio de absorción de AC (Figura 6.6).

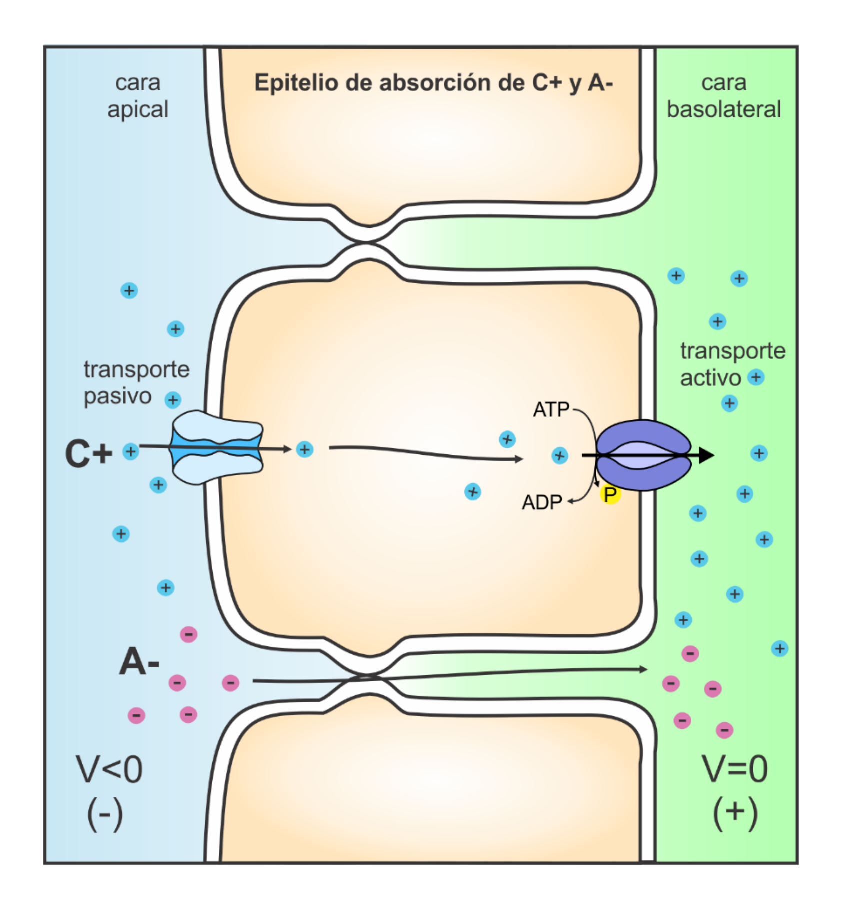


Figura 6.6: Representación del transporte transepitelial de un catión en un epitelio simple y del flujo de aniones que se produce por vía paracelular impulsado por la diferencia de potencial eléctrico. Epitelio absortivo

Alternativamente, si el ion transportado activamente a través del epitelio es el anión A^-, entonces ahora la cara de la célula que secreta A^-, cualquiera que sea, tendrá un potencial eléctrico más negativo con respecto a la que lo absorbe, lo que podría impulsar un flujo pasivo paracelular del catión C^+ de un lado al otro del epitelio.

6.3 Movimiento de agua debido a fuerzas osmóticas secundarias al transporte de solutos

Como hemos visto en capítulos anteriores, no hay mecanismos de transporte activo para el agua. En los sistemas biológicos, el agua se mueve pasivamente debido a una fuerza impulsora que se compone de dos tipos de fuerzas: diferencias en la concentración de agua y diferencias en la presión hidrostática entre dos compartimentos.

En el caso de los epitelios con transporte vectorial de solutos, dicho transporte puede brindar la fuerza impulsora para el movimiento pasivo de agua. En los primeros dos ejemplos que vimos anteriormente, el transporte transepitelial activo de C^+ impulsaba el movimiento pasivo de A^- en el mismo sentido. La consecuencia de este movimiento transepitelial de solutos es que la solución del compartimiento desde el cual parten los solutos se hace más diluida (baja la osmolaridad), mientras que la del compartimento al que llegan, se concentra en solutos (sube la osmolaridad). Pero también podemos ver esto desde el punto de vista del agua: la solución que pierde solutos, se hace más concentrada en agua, y la que gana solutos se hace más diluida en agua. Esto hace que entre las dos caras del epitelio aparezca una fuerza impulsora (gradiente de concentración de agua) que genera un movimiento de agua en el mismo sentido en el que se transportan los solutos. Por ejemplo, si el epitelio secreta AC, también secretará agua; a su vez, si el epitelio absorbe AC, entonces también absorberá agua.

Lo mismo ocurriría en el caso de que el transporte transepitelial activo de A^- impulsara el movimiento pasivo de C^+ en el mismo sentido.

Es importante notar que para que la explicación fuera clara, se desarrolló el tema en forma de una secuencia: primero pasa un ion, que luego genera un potencial transepitelial, que impulsa a otro ion, y que esto finalmente genera el movimiento de agua. Sin embargo, estos procesos se van dando en forma continua y simultánea. Mientras haya transporte activo de un ion, el contraión y el agua acompañarán este movimiento. Como la cantidad de agua que se transporta es equivalente a la cantidad de solutos que se ha movido, el proceso global es isoosmótico (no se alteran significativamente las osmolaridades en el seno de los líquidos apicales o basolaterales).

6.4 Aplicación de los principios de transporte transepitelial

Veamos ahora cómo se puede aplicar el modelo de transporte transepitelial a la secreción o a la absorción de solutos en ejemplos fisiológicos concretos.

6.4.1 Epitelio secretor de NaCl

En un epitelio como el representado en a Figura 6.7, el Cl^- ingresa a la célula desde el espacio basolateral mediante un transportador $Na^+/K^+/2Cl^-$. Este es un transporte activo secundario de Cl^- y K^+, hacia el interior de la célula, impulsado por la entrada de Na^+ a favor de su gradiente electroquímico[16]. De esta forma, la célula acumula Cl^- en su interior, lo que, junto al po-

[16] El gradiente electroquímico de Na^+ necesario para el transporte activo de Cl- fue generado gracias a la actividad del transporte activo primario de Na^+ y de K^+ mediado por la Na^+/K^+-ATPasa de la membrana basolateral. Ni el Na^+ ni el K^+ que entran con el Cl- por el transportador Na^+/K^+/2Cl- se acumulan en el interior celular ya que el Na^+ es sacado por la bomba, mientras que el K^+ puede salir pasivamente por un canal iónico localizado en el lado basolateral.

tencial de membrana negativo, produce una fuerza impulsora que impulsa al Cl^- hacia fuera de la célula. Como los transportadores que dejan salir Cl^- son canales iónicos ubicados en la membrana apical, el Cl^- sale hacia el espacio apical y no vuelve al basolateral. El transporte transcelular neto de Cl^- desde la cara basal hacia la apical del epitelio produce una diferencia de potencial transepitelial que impulsa al Na^+ en el mismo sentido a través de la ruta paracelular, generando la secreción de NaCl. Este transporte vectorial brinda la fuerza impulsora para el movimiento pasivo de agua en el mismo sentido.

Este mecanismo de secreción de NaCl y de agua está presente en las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado y en las de la mucosa de las vías aéreas de conducción, en donde se utiliza para explicar la secreción de agua y electrolitos por parte de esas mucosas.

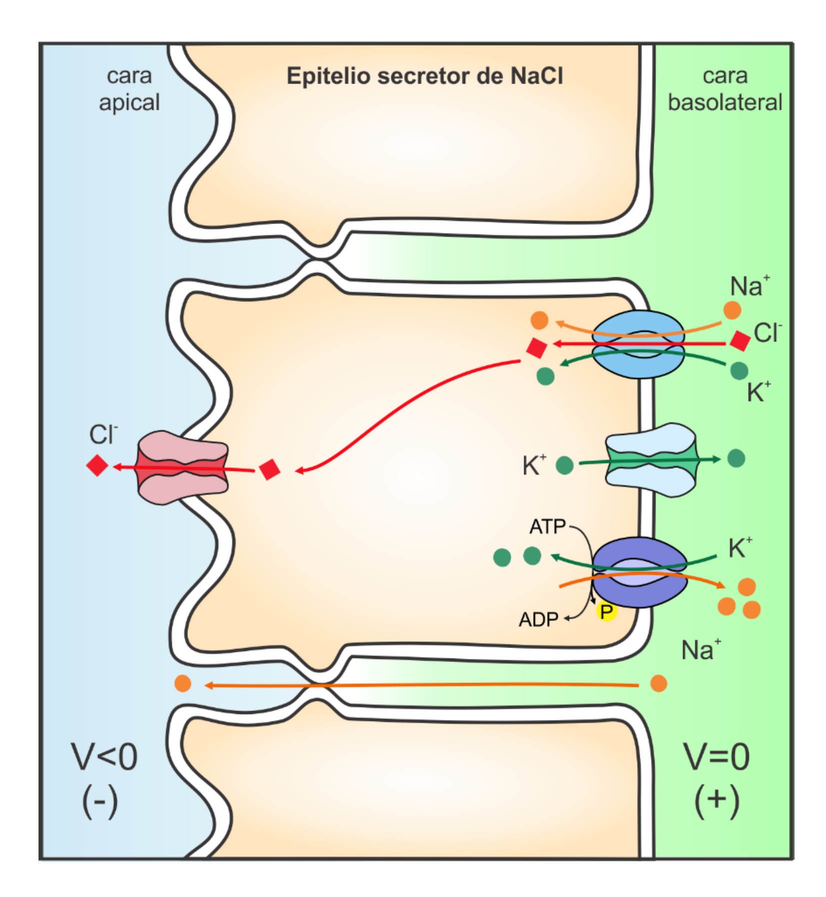


Figura 6.7: Representación de un epitelio secretor de NaCl

Relacionado con este mecanismo:

La fibrosis quística es una enfermedad determinada genéticamente en la cual hay diversos tipos de mutaciones en el genoma de los pacientes que disminuyen la funcionalidad del canal de Cl^- de la membrana apical de diversos epitelios secretores. Por ejemplo, en el caso de las vías aéreas, se ve reducida la capacidad de secretar Cl^- y por ende agua. Esto hace que la capa de moco que tapiza la mucosa de las vías áreas sea más espesa (por déficit de líquido aportado por el epitelio), lo que lleva a obstrucciones en las vías aéreas que explican parte de las manifestaciones clínicas del paciente.

6.4.2 Epitelio que absorbe NaCl

En un epitelio como el representado en la Figura 6.8, la Na^+/K^+-ATPasa de la membrana basolateral saca activamente Na^+ de la célula e incorpora K^+. Esto genera gradientes electroquímicos para ambos iones entre el medio extracelular y el intracelular, como ya vimos en general para todas las células. En el caso del Na^+, el gradiente apunta hacia el interior de la célula. Si se ubican canales de Na^+ en la membrana apical, entonces el Na^+ entrará por estos canales, generando un flujo transcelular neto desde la cara apical del epitelio hacia el espacio basolateral. Como resultado se generará una diferencia de potencial transepitelial donde la cara apical tiene un potencial más negativo que la basolateral. Este potencial eléctrico impulsará al Cl^- a pasar a pasivamente por la ruta paracelular, en el mismo sentido en el que se mueve el Na^+.

Este modelo de transporte fue propuesto por primera vez por H. Ussing, aplicado a la absorción de NaCl por la piel de la rana. Hoy se lo usa, por ejemplo, para explicar la reabsorción activa de NaCl por el epitelio de los túbulos contorneados proximales renales desde la luz tubular hacia el intersticio, de donde puede difundir hacia los capilares sanguíneos y salir por la vena renal hacia la circulación sistémica.

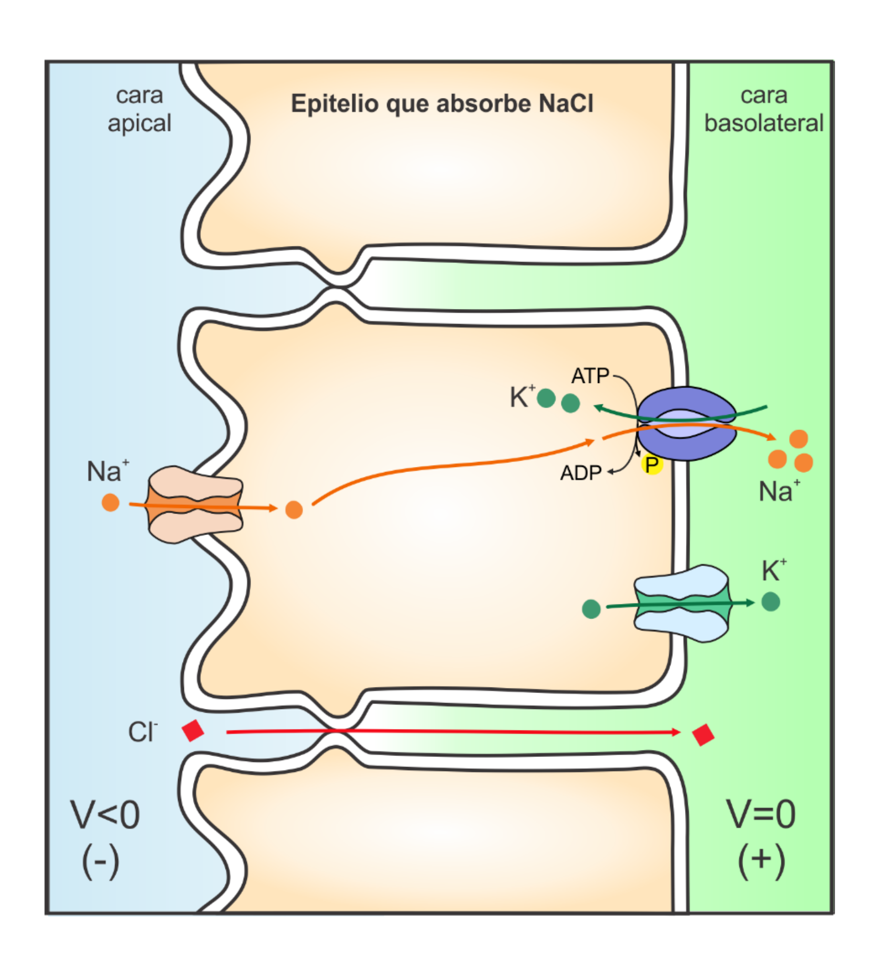


Figura 6.8: Representación de un epitelio que absorbe NaCl

En los ejemplos anteriores el transporte activo de un soluto generaba el movimiento pasivo de otro soluto y de agua en el mismo sentido, haciendo que el epitelio tenga una función puramente secretora o puramente absortiva. Sin embargo, la disposición de los transportadores en las membranas de las células epiteliales podrían generar transportes netos de solutos en sentidos opuestos, permitiendo que el epitelio secrete algunos solutos y absorba otros. El sentido del movimiento neto de agua estará determinado por las magnitudes relativas de los flujos de soluto que ocurren en sentidos opuestos. A continuación se presenta un ejemplo fisiológico de esta situación.

6.4.3 Epitelio que absorbe NaCl y secreta K^+

En un epitelio como el representado en la Figura 6.9, la Na^+/K^+-ATPasa de la membrana basolateral saca activamente Na^+ de la célula e incorpora K^+. Esto genera gradientes electroquímicos para ambos iones entre el medio extracelular y el intracelular, como ya vimos en general para todas las células.

En el caso del Na^+, el gradiente apunta hacia el interior de la célula. Si se ubican canales de Na^+ en la membrana apical, entonces el Na^+ entrará, generando un flujo transcelular neto desde la cara apical del epitelio hacia el espacio basolateral. Este flujo transcelular neto de Na^+ tiende a hacer el potencial de la membrana basolateral más positivo que el apical.

En el caso del K^+, el gradiente apunta hacia el exterior de la célula. Si se ubican canales de K^+ tanto en la membrana apical como en la membrana basolateral, entonces el K^+ puede salir de la célula pasivamente hacia el espacio apical y hacia el espacio basolateral, respectivamente. En este tipo de epitelio se observa que el flujo apical es de mayor magnitud que el basolateral, por lo que se produce un transporte neto transcelular de K^+ hacia el lado apical. Este flujo transcelular neto de K^+ tiende a hacer el potencial de la membrana apical más positivo que el basolateral.

Nótese que ahora hay transporte activo de cationes en los dos sentidos simultáneamente: absorción de Na^+ y secreción de K^+.

Como, en este tipo de epitelio, en el lado apical el flujo de entrada de Na^+ es de mayor magnitud que el flujo de salida de K^+, el efecto neto en el potencial de membrana transepitelial es que el lado basolateral tiene un potencial más positivo que el lado apical. Por lo tanto si las uniones intercelulares permiten el pasaje de Cl^-, el potencial transepitelial generará el movimiento pasivo de Cl^- por la vía paracelular desde el lado apical hacia el lado basolateral.

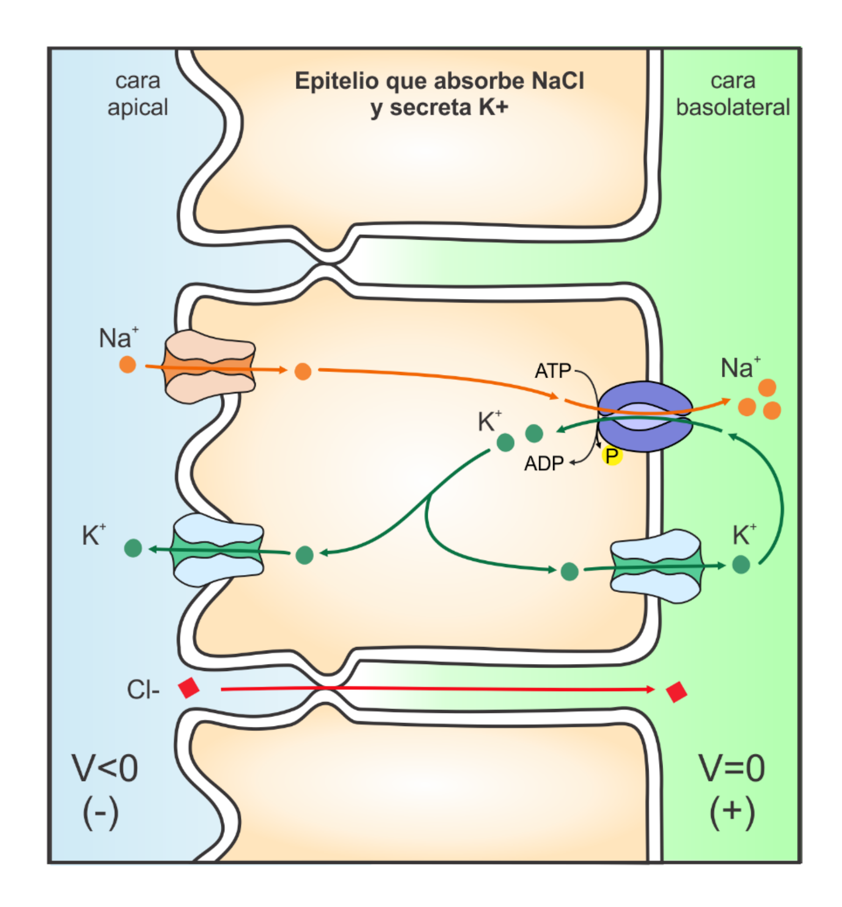


Figura 6.9: Representación de un epitelio que absorbe NaCl y secreta K^+

Este modelo se utiliza para explicar la absorción de Na^+ y la simultánea secreción de K^+ por parte de las células epiteliales principales de los túbulos colectores renales. Una consecuencia de la interdependencia del transporte de Na^+ y de K^+ es que los factores que afecten la reabsorción de Na^+, como por ejemplo un inhibidor de los canales de Na^+ de la membrana apical, van a modificar la capacidad del epitelio de secretar K^+.

6.5 Movimiento de agua a través de la barrera capilar

Como ya mencionamos, en los sistemas biológicos los movimientos de agua entre dos compartimentos son pasivos, y se deben a una fuerza impulsora que se compone de dos tipos de fenómenos: diferencias en la concentración química de agua y diferencias en la presión hidrostática entre esos dos compartimentos. Podemos aplicar estos conceptos para explicar el intercambio de agua que existe entre la sangre y el espacio extravascular, en donde se encuentra el líquido intersticial con el que están en contacto las membranas de las células de los tejidos.

No todos los capilares son iguales: según cómo sea la estructura y la organización de las células endoteliales se pueden clasificar en continuos, fenestrados y sinusoides. Sin embargo, una discusión tan detallada excede los límites de este libro, de forma que consideraremos la

pared del capilar simplemente como una monocapa celular que separa la sangre y el espacio intersticial sin hacer diferencias entre los tipos de capilares.

El modelo que usaremos, entonces, se puede representar en forma muy simple como muestra la Figura 6.10.

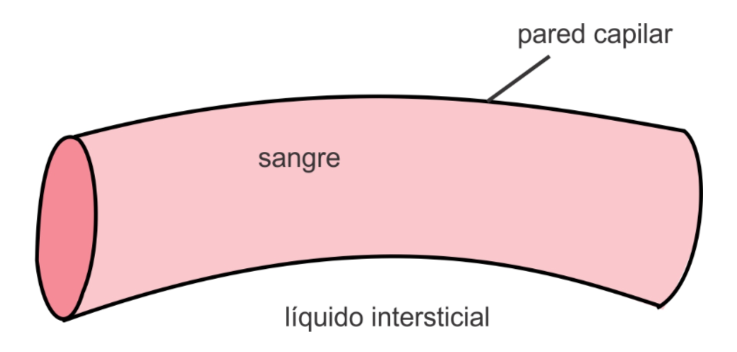


Figura 6.10: Representación esquemática de un capilar sanguíneo.

A su vez, sólo tendremos en cuenta el componente líquido de la sangre, el plasma.

Las fuerzas que impulsan al agua a moverse a través de la pared del capilar son: la diferencia de presión hidrostática y la diferencia de osmolaridad (Figura 6.11).

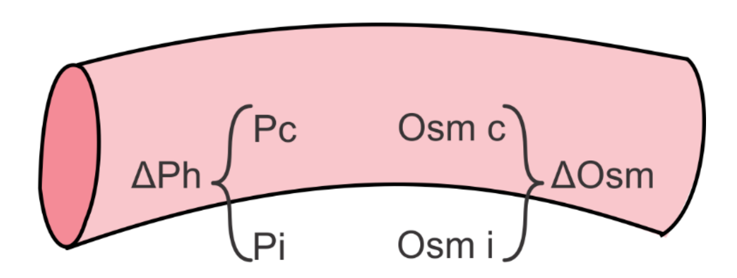


Figura 6.11: Representación esquemática de un capilar sanguíneo evidenciando las fuerzas que impulsan al agua a moverse a través de la pared del capilar.

Diferencia de presión hidrostática (ΔPh):

ΔPh = presión del líquido en el capilar – presión del líquido en el intersticio

La presión del líquido en el capilar es la presión hidrostática de la sangre en ese vaso sanguíneo (Pc), mientras que la presión del líquido en el intersticio se denomina presión intersticial (Pi). Si la Pc es mayor que la Pi, entonces ΔPh es >0, y esta componente de la fuerza impulsora empujaría al agua a salir del capilar.

Diferencia de osmolaridad (Δosmolaridad)

Δosmolaridad = osmolaridad del plasma – osmolaridad del líquido intersticial

Si la osmolaridad del plasma en el capilar es mayor que la osmolaridad del insterticio, entonces ΔOsmolaridad es >0, y esta componente de la fuerza impulsora empujaría al agua a entrar al capilar.

Para obtener la fuerza impulsora neta hay que poder combinar estas dos fuerzas en una ecuación, para eso podemos utilizar la relación que existe ente la osmolaridad y la presión osmótica de una solución como se describió en el Capítulo 2:

$\pi = R.T.(osmolaridad) = R.T.\ \phi.i.C$

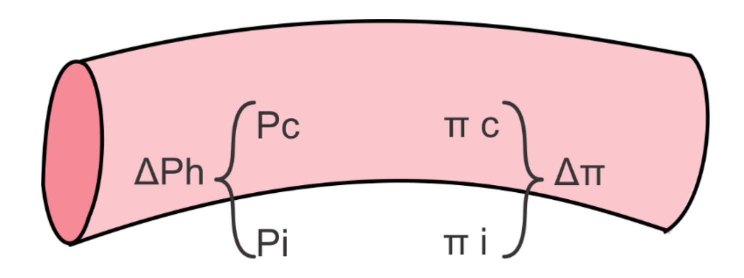


Figura 6.12: Representación esquemática de un capilar sanguíneo evidenciando las fuerzas (ambas en unidades de presión) que contribuyen al flujo de agua.

Al hablar de pasaje de agua a través de la barrera capilar, la convención que se usa consiste en considerar positivos los flujos de agua cuando ésta se mueve desde el capilar hacia el intersticio y como negativos los flujos en la dirección opuesta. Por lo tanto, en la ecuación de la fuerza impulsora, el término de ΔPh aparecerá sumando, porque cuanto más grande sea ΔPh, más tenderá el agua a abandonar el capilar. Por otro lado, el término Δπ aparecerá restando ya que cuanto más grande sea la osmolaridad en el plasma más se opondrá a la salida de agua desde el capilar hacia el intersticio.

Fuerza Impulsora = ΔP hidrostática - Δπ

Como las unidades de ambos términos son unidades de presión, a la fuerza impulsora se la puede llamar también presión neta de filtración:

P neta filtración = ΔP hidrostática – Δπ = (Pc – Pi) – (πc – πi)

En el esquema del capilar podemos representar cada una de las componentes con flechas que apuntan hacia la dirección en la que contribuirían al flujo de agua: Pc apuntaría hacia el exterior del capilar, mientras que Pi apuntaría hacia adentro; a su vez, πc apuntaría hacia

adentro del capilar y πi hacia afuera (recordar que el agua se mueve desde el sitio en donde la osmolaridad es menor hacia el que la osmolaridad es mayor (Figura 6.13).

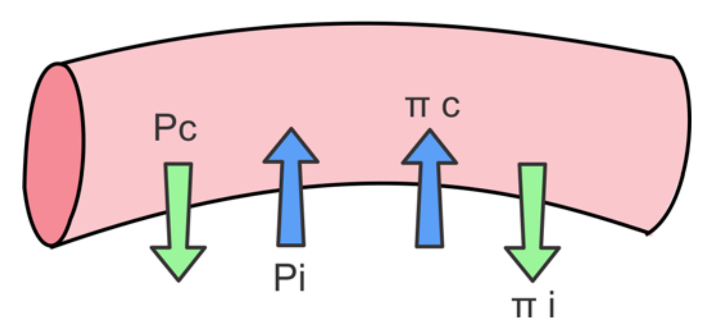


Figura 6.13: Representación esquemática de un capilar sanguíneo evidenciando la dirección en la que contribuirían al flujo de agua

Como dijimos, Pc es la presión de la sangre en el capilar y Pi es la presión del líquido intersticial. Cuando hablamos de las fuerzas osmóticas, hay que recordar que la pared del capilar es una estructura formada por células y matriz extracelular. Por lo tanto, tenemos que evaluar cuáles de los solutos del plasma y del líquido intersticial contribuirán a la generación de fuerzas osmóticas a través de esta barrera compleja. Si bien no todos los capilares son iguales en lo que hace a su permeabilidad a distintas sustancias, podemos generalizar diciendo que el capilar promedio es permeable al agua y a casi todo lo que se encuentra disuelto en plasma (ej: iones inorgánicos, moléculas orgánicas pequeñas como glucosa, urea, etc.) pero es muy poco permeable a partículas grandes, como las proteínas. Es por esto que se considera que para la pared del capilar, los iones inorgánicos y las moléculas orgánicas pequeñas, no son sustancias osmóticamente activas, mientras que las proteínas sí lo son. Entonces, para calcular πc y πi se consideran sólo las proteínas, y a dichas magnitudes se les da el nombre de presiones oncóticas o presiones coloidosmóticas.

Los valores de Pc, Pi, πc y πi pueden variar de un lecho vascular a otro, pero podemos tomar valores promedio como para hacer un cálculo en un capilar estándar en un individuo sano, en reposo:

- Pc es del orden de 30 mmHg en el extremo arterial del capilar y de 15 mmHg en el extremo venoso
- Pi es variable, pero siempre muy inferior a Pc. Usaremos 0,5 mmHg como valor promedio, aunque en algunos lechos podría incluso ser negativa (ej: -3 mmHg), es decir, menor que la presión atmosférica
- πc es de 25 a 28 mmHg y no varía a lo largo del recorrido del capilar
- πi es de 5 a 8 mmHg (es más baja que πc porque en el intersticio la concentración de proteínas es muy baja)

Esto nos daría:

- Extremo arterial del capilar:
  Pneta = (30 mmHg – 0,5 mmHg) – (25 mmHg – 5 mmHg) = 9,5 mmHg
- Extremo venoso del capilar:
  Pneta = (15 mmHg – 0,5 mmHg) – (25 mmHg – 5 mmHg) = -5,5 mmHg

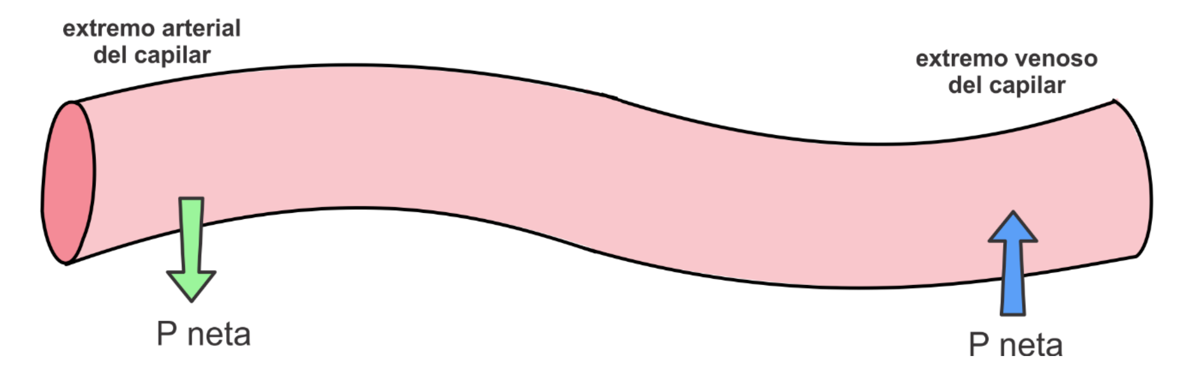


Figura 6.14: Representación esquemática de un capilar sanguíneo evidenciando la dirección en la que la presión neta contribuye al flujo de agua en el extremo arterial y en el extremo venoso del capilar

Por lo tanto, en el extremo arterial del capilar la presión neta apunta hacia afuera, produciendo salida de agua, mientras que en el extremo venoso del capilar, apunta hacia adentro, produciendo reabsorción de agua desde el intersticio hacia el capilar (Figura 6.14).

El factor que cambia en el recorrido del capilar es la Pc: como ésta va descendiendo a lo largo del capilar, primero hay filtración neta hacia el intersticio, luego llega un punto en el cual cesa el flujo neto de agua (cuando Pneta =0) y en el extremo venoso del capilar, como Pneta es menor a cero (apunta hacia adentro del vaso), hay un retorno de agua hacia el interior del capilar. La salida de agua arrastra consigo sustancias solubles del plasma hacia el intersticio, lo que favorece la llegada hacia las células de nutrientes, O_2, hormonas y otras sustancias necesarias para la vida celular. La vuelta del líquido hacia el capilar permite que las sustancias desechadas o secretadas por la célula entren fácilmente a la sangre.

La cantidad de líquido que retorna al capilar es menor que la que salió. Se considera que en promedio vuelve al vaso un 93-95% del agua que había salido, de forma que un 5-7% de este líquido tendería a acumularse en el intersticio. Sin embargo, esto no ocurre, ya que ese exceso de líquido es normalmente drenado por los vasos linfáticos.

Relacionado con este mecanismo tenemos que:

- Si hay una disminución patológica en la concentración de proteínas en plasma, la πc bajaría, lo que haría que la Pneta de filtración subiera (recordar que πc favorece la retención de líquido en el capilar), produciendo más salida de líquido hacia el intersticio, generando edemas.
- Si la Pc aumenta debido, por ejemplo, a una congestión vascular, esto también llevaría a edema por mayor salida de líquido.

- Si hay una obstrucción parcial o total en el flujo linfático de un tejido, también se produciría edema, debido a que se reduciría o se eliminaría el drenaje del líquido que debería haberse ido por esta vía.

6.6 Exocitosis en células secretoras endócrinas

Como vimos en el Capítulo 4, las células secretoras endócrinas producen hormonas y las liberan al medio extracelular. Luego, las hormonas difunden hacia el plasma y viajan por vía sanguínea hacia las células blanco donde ejercen su acción.

Cuando las hormonas son de naturaleza peptídica o derivadas de aminoácidos, se almacenan en vesículas intracelulares hasta el momento de su liberación por exocitosis.

En general, el mecanismo básico de exocitosis, por el cual una célula podría liberar al medio extracelular las hormonas almacenadas en vesículas, es desencadenado por un aumento en la concentración del Ca^{2+} citosólico. Éste es un proceso similar al que ya discutimos en el capítulo de sinapsis: la señal que estimula a la célula genera un aumento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol que desencadena el proceso de exocitosis, o sea, la migración de las vesículas con el producto de secreción hacia la membrana plasmática, su fusión con la membrana y la salida del contenido de la vesícula hacia el exterior de la célula. Los mecanismos dependientes del Ca^{2+} que generan este proceso de exocitosis son complejos e involucran una serie de proteínas presentes en la superficie de las vesículas que interaccionan con estructuras del citoesqueleto, permitiendo que la vesícula se mueva hacia la membrana, y luego con otras proteínas de la membrana plasmática para permitir la fusión de las vesículas. De esta forma podemos decir que el aumento del Ca^{2+} intracelular desencadena la exocitosis (Figura 6.15).

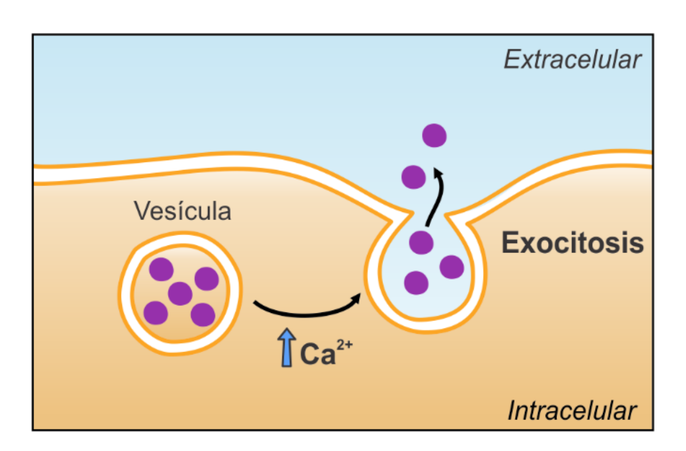


Figura 6.15: Representación esquemática del proceso de exocitosis: un aumento en la concentración del Ca^{2+} citosólico induce la fusión de las vesículas con la membrana plasmática, liberando el contenido hacia el espacio extracelular

Las fuentes de Ca^{2+} para generar estos aumentos transitorios de calcio que activan la exocitosis, son el medio extracelular y los depósitos intracelulares de Ca^{2+}, principalmente el retículo

endoplásmico. Lo que puede variar entre distintas células o en respuesta a diferentes estímulos, es la forma en que el estímulo para la secreción de hormonas se vincula con la generación del incremento del Ca^{2+} citosólico.

Algunas formas de vinculación entre estímulo y aumento de calcio son:

Despolarización de la membrana y entrada de Ca^{2+} desde el medio extracelular:

El mecanismo más simple consiste en que el estímulo que señaliza la liberación de la hormona, provoque de alguna forma la despolarización de la membrana celular, y que la despolarización aumente la probabilidad de apertura de canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje localizados en la membrana plasmática. Gracias a la enorme fuerza impulsora existente para que el Ca^{2+} entre a la célula desde el medio extracelular, se produce un influjo de Ca^{2+} suficiente como para cambiar la concentración citosólica de este ion, lo que dispara el proceso de exocitosis (Figura 6.16). Esto es similar a lo que ya vimos en la sinapsis, en donde la despolarización del botón sináptico producida por el potencial de acción proveniente del axón genera la entrada de Ca^{2+} y la salida del neurotransmisor hacia el espacio intersináptico.

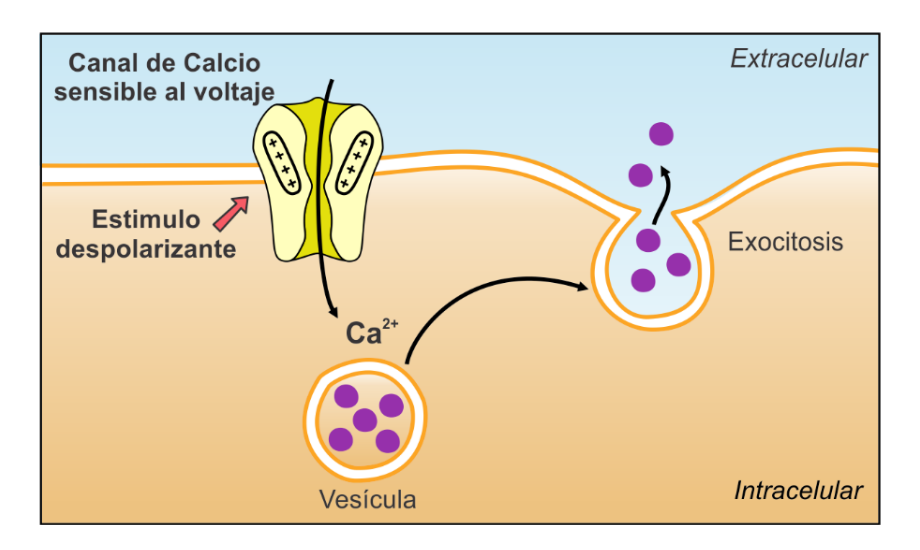


Figura 6.16: Representación esquemática del proceso de exocitosis donde el aumento en la concentración del Ca^{2+} citosólico es generado por la entrada de calcio desde el espacio extracelular a través de canales iónicos de Ca^{2+} operados por voltaje

Mecanismos de señalización no dependientes del voltaje que produzcan la apertura de canales de Ca^{2+}:

Los canales de Ca^{2+} de la membrana pueden ser activados por múltiples mecanismos independientes de un cambio del valor del potencial de membrana. Pude ser que la señal sea una señal química que active un receptor, y que este receptor produzca la apertura de los canales de Ca^{2+} (en este caso, se los puede denominar canales operados por receptor). Las formas en que un receptor se puede comunicar con los canales son variadas, y ya se vieron con anterioridad: puede ser una proteína G que vincule directamente al receptor con el canal o alguna ruta de segundos mensajeros, por ejemplo AMPc y señalización por PKA (Figura 6.17).

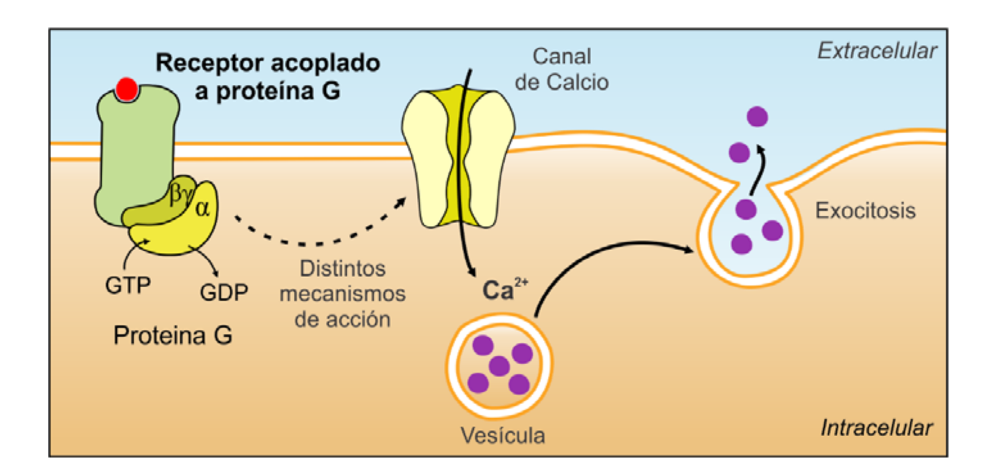


Figura 6.17: Representación esquemática del proceso de exocitosis donde el aumento en la concentración del Ca^{2+} citosólico es generado por el aumento en la probabilidad de apertura de un canal de Ca^{2+} activado por un receptor acoplado a proteína G

Salida de Ca^{2+} desde depósitos intracelulares:

La señal para la exocitosis de hormonas puede activar la salida de Ca^{2+} desde algún depósito intracelular de este ion. Lo más común, es que se trate del retículo endoplásmico. En este caso, la vía clásica para producir salida de Ca^{2+} del retículo consiste en la activación de los canales de Ca^{2+} del retículo conocidos como receptores de inositol trifosfato (IP3), que ya se describieron en el capítulo 4. La señal extracelular para la secreción de hormonas activa a la ruta de la fosfolipasa C, que genera IP3 y DAG; el IP3 difunde hasta el retículo endoplásmico y activa a sus receptores. Esto produce la salida de Ca^{2+} gracias a la fuerza impulsora para este ion que apunta hacia el citosol (Figura 6.18).

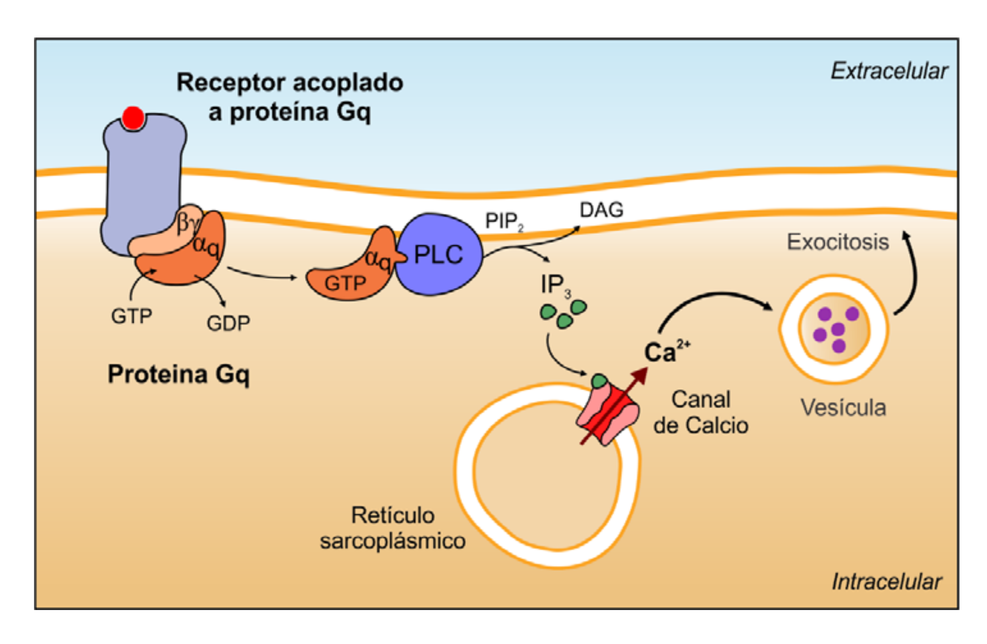


Figura 6.18: Representación esquemática del proceso de exocitosis donde el aumento en la concentración del Ca^{2+} citosólico proviene de la activación de un canal de Ca^{2+} localizado en el retículo sarcoplásmico y es activado por un segundo mensajero (IP3 en este caso).

Otra vía para generar la salida de Ca^{2+} del retículo es aumentar la probabilidad de apertura de los canales de Ca^{2+} de la membrana plasmática produciendo así un influjo de Ca^{2+} que estimula a canales de Ca^{2+} sensibles al Ca^{2+} localizados en la membrana del retículo (denominados receptores de rianodina).

Algunos mecanismos de señalización dependiente de una ruta de segundos mensajeros disparan la exocitosis de las hormonas sin que se necesite generar un aumento transitorio del Ca^{2+} citoplasmático. Hay diversas posibilidades, pero lo más común es que se trate de una ruta de segundos mensajeros del tipo de nucleótidos cíclicos, tal como el AMPc seguido de activación de la PKA.

Podemos integrar todos estos mecanismos examinando el ejemplo de las células beta del páncreas endócrino, productoras de la hormona insulina. En este caso, la secreción de insulina está regulada por sustancias plasmáticas, por hormonas y por mecanismos neurales. El aumento de la glucosa o de los aminoácidos en plasma generan un aumento de la secreción de insulina. La forma en que estos dos estímulos actúan sobre la célula beta se conoce como la ruta metabólica del estímulo de la secreción de insulina:

- La glucosa y los aminoácidos son transportados al interior de la célula beta. Este es un ejemplo en el cual no hay un receptor en la membrana celular que detecte la señal.
- La glucosa y los aminoácidos son metabolizados por rutas degradativas que terminan generando la síntesis de ATP por parte de las mitocondrias.
- El aumento de la concentración intracelular de ATP inhibe a un canal de K^+ de la membrana plasmática llamado K_{ATP}.
- La disminución de la probabilidad de apertura de los canales K_{ATP} genera una despolarización de la membrana plasmática.
- El cambio del potencial de membrana aumenta la probabilidad de apertura de canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje de la membrana, lo que produce un influjo de Ca^{2+}.
- El aumento de la concentración del Ca^{2+} citosólico induce la fusión de las vesículas en las que la insulina está almacenada.
- La entrada de Ca^{2+} también produce una liberación de Ca^{2+} adicional a partir del retículo endoplásmico gracias a la activación de canales de Ca^{2+} sensibles al Ca^{2+} presentes en ese organoide.

A su vez, la célula beta está regulada por hormonas y neurotransmisores. Sin detallar nombres, digamos que aquellas hormonas o neurotransmisores que estimulen receptores acoplados a PLC generarán secreción de insulina por el mecanismo ya discutido más arriba de liberar Ca^{2+} del retículo gracias a la producción de IP3. La activación de receptores que estimulen la síntesis de AMPc por la adenilato ciclasa también producirá mayor secreción de insulina ya que la PKA es otro inductor de la exocitosis, mientras que los receptores que inhiban la adenilato ciclasa generarán el efecto contrario.

Una excepción a este mecanismo general donde el aumento del calcio intracelular induce exocitosis, es el caso de las células principales de las glándulas paratiroides, que producen y secretan la hormona paratiroidea (PTH), una de las hormonas que regula el balance corporal de Ca^{2+} y fósforo. La secreción de esta hormona está regulada por la concentración de Ca^{2+} intracelular en forma inversa: cuando el Ca^{2+} citoplasmático aumenta, la secreción de PTH disminuye.

La célula tiene en su membrana un sensor de Ca^{2+} extracelular, que cuando se une a este ion, produce la activación de la PLC a través de una proteína G. Esto induce la síntesis de IP3 y DAG, que conduce a la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico, generando un aumento del Ca^{2+} en el citosol. Pero en este caso, al contrario de lo que estuvimos viendo, el incremento del Ca^{2+} produce una inhibición de la exocitosis de la hormona. Como resultado, un aumento de la concentración de Ca^{2+} en el plasma genera una disminución en la secreción de PTH.

Bibliografía ampliatoria

Medical Physiology - Walter F. Boron – E. L. Boudalep - second edition Saunders Elsevier – 2009.

Principios de Fisiología Animal C. D. Moyes and P.M. Schulte Pearson Educación, S.A. Madrid, 2007

Fisiología Humana un enfoque integrado D. U Silverthorn Editorial Panamericana 2014

Texto y Atlas de Fisiología – A. Despopoulos and S. Silbernagl Mosby/Doyma Libros 1994

Essential Medical Physiology – L.R. Johnson Elsevier Academic Press – 2003.

Physiology. R.M. Berne- M.N. Levy. Ed. Mosby. 4ta. Edición 1998.

Fisiología Humana. J.A.F. Tresguerres. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. 2da. Edición 1999.

Fisiologia: Molecule, cellule e sistemi E D´Angelo e A. Peres Edi-ermes s.r.l. Milano 2007

Elementi di Fisiologia e Biofisica della cellula V. Taglietti e Cesare Casella La Goliardica Pavese s.r.l.1994

Histología F. Geneser Editorial Panamericana 2015

Biología Curtis, H.,Barnes, S.,Schnek, A. y Massarini, A. (2008) , 7ma ed. Editorial Panamericana 2008.

Los autores

Coordinadores

Milesi Verónica

Lic. en Ciencias Farmacéuticas (Fac. Cs. Exactas –UNLP) y Doctora en Ciencias Fisiológicas (Universitá degli Studi di Pavia, Italia). Profesora Titular (DE) de las asignaturas Fisiología Animal (Carrea de Biotecnología y Biología Molecular) y Fisiología (Carrera de Farmacia) del Dpto. de Ciencias Biológicas de la Fac. de Ciencias Exactas. Actualmente se desempeña como Jefa de Departamento. Ha sido profesora visitante de la Universidad de Pavia en varias oportunidades y docente de cursos de posgrado nacionales e internacionales en la especialidad de electrofisiología. Investigadora Independiente del CONICET – Miembro de la Comisión de docencia de la SAFIS. Miembro de la SAB y de la ISCAM. Dirige un grupo de investigación en temáticas de fisiología y biofísica de canales iónicos y ha publicado artículos científicos, y participado en numerosos congresos. Es autora de trabajos premiados en didáctica de la fisiología en 2014, 2016 y 2017.

Mobili Pablo

Bioquímico y Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Se desempeña como Profesor Adjunto de Fisiología Animal y Fisiología en la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP. Ha presentado trabajos en congresos y simposios dedicados a la enseñanza de la fisiología, sobre distintas temáticas relacionadas con la organización de los contenidos de la asignatura Fisiología Animal para alumnos de biotecnología, las distintas estrategias de evaluación y las actividades para favorecer el desarrollo de habilidades relacionadas y no relacionadas con los contenidos; algunos de estos trabajos han sido premiados (Premio Ángeles Costa SAFIS 2014, Premio Ángeles Costa SAFIS 2016 y Premio IUPS 2017). Además se desempeña como Investigador Adjunto del CONICET, en el área de la Tecnología de Alimentos, y es autor de artículos en revistas científicas y capítulos de libro en esta temática.

Autores

Enrique Nicolás

Bioquímico y Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Ayudante Diplomado (DE) de Fisiología Animal y Fisiología, Facultad de Ciencias

Exactas, UNLP. Es autor de trabajos científicos en temas de fisiología y fisiopatología cardiovascular y ha participado en números congresos de la especialidad. Ha participado de numerosos congresos de docencia en Fisiología, recibiendo premios a trabajos presentados en 2014, 2016 y 2017. Ha participado como docente en un Curso de Postgrado sobre electrofisiología. Es actualmente becario postdoctoral de Conicet.

León Ignacio

Lic en Biotecnología y Biología Molecular y Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (Área Ciencias Biológicas). Es Jefe de Trabajos Prácticos en la Cátedra de Fisiopatología y Fisiopatología Ocular del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y ha participado como docente en cursos de posgrado. Se desempeña como investigador del CONICET y ocupa actualmente el cargo de Prosecretario de Posgrado de la Facultad de Ciencias Exactas. Ha participado en congresos científicos nacionales e internacionales como orador invitado y publicado artículos en revistas científicas relacionado a su temática de investigación sobre farmacología de metalodrogas en tumores sólidos. Además, ha participado en congresos de docencia, abordando temáticas de fisiología y didáctica.

Moncada Melisa

Lic. en Biotecnología y Biología Molecular y estudiante de Doctorado de la Facultad de Cs. Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP). Es ayudante diplomado dedicación simple en las materias Fisiología Animal y Fisiología, como (FCE-UNLP). Ha participado de numerosos congresos de docencia en Fisiología, recibiendo premios a trabajos presentados en 2014, 2016 y 2017. Ha participado como docente en un Curso de Postgrado sobre electrofisiología. Es actualmente Profesional de Apoyo en el Instituto de estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos (IIFP-UNLP-CONICET). Es autora de artículos científicos relacionados con la acción de agonistas endógenos sobre canales iónicos en el músculo liso vascular.

Rebolledo Alejandro

Bioquímico y Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesor Adjunto de Fisiología, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. Profesor Titular de Fisiología y de Fisiopatología, Universidad Nacional Arturo Jauretche (UNAJ). Ha dictado cursos de postgrado en electrofisiología. Es autor de trabajos científicos en temas de fisiología y fisiopatología cardiovascular y ha participado en números congresos de la especialidad.

Tolosa María José

Licenciada en Bioquimica y Dra. de la Facultad de Ciencias Exactas área Ciencias Biológicas de La Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos de Fisiología y Fisiopatología para la carrera de Farmacia de la Fac. Cs Exactas UNLP. Es autora y coautora de trabajos científicos en temas de fisiología ósea y celular, y ha participado en números con-

gresos de la especialidad.Ha participado de numerosos congresos de docencia en Fisiología y de docencia universitaria. Cotidianamente participa de actividades de divulgación de la ciencia para niños en el marco de "La Semana del Cerebro" (Brain Awareness Week - BAW).Es actualmente Profesional de Apoyo Adjunto del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) a cargo del Sector de Microscopia del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE).

Speroni Francisco

Bioquímico y Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (Área Ciencias Biológicas). Es profesor adjunto en la Cátedra de Anatomía e Histología del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y ha participado como docente en cursos de posgrado. Se desempeña como investigador del CONICET y ha ocupado distintos cargos de gestión den la Facultad de Ciencias Exactas. Ha publicado artículos en revistas científicas y participado en congresos, abordando temáticas de fisiología, ciencia de los alimentos y didáctica.

Libros de Cátedra

Fisiología celular : señales y respuestas / Verónica Milesi... [et al.] ;
coordinación general de Verónica Milesi ; Pablo Mobili.- 1a ed.-
La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; EDULP, 2019.
Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-950-34-1836-9

1. Fisiología. 2. Ciencias Exactas. I. Milesi, Verónica, coord. III. Mobili, Pablo, coord.
CDD 571.6

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2020
ISBN 978-950-34-1836-9





